

Indian Agricultural
Research Institute, New Delhi

Zentralblatt
für
Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

Begründet von Oskar Uhlworm

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftliche, technische, Nahrungsmittel-Bakteriologie und Mykologie (einschließlich der Gärungsphysiologie und Enzymologie), Protozoologie, Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, sowie Tierkrankheiten (ausschließlich der in das Gebiet der Medizin gehörenden)

herausgegeben von

Oberregierungsrat Dr. C. Stapp
Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 17/19

91. Band

Mit 105 Abbildungen im Text und 4 Tafeln



Jena
Verlag von Gustav Fischer
1934/35

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 91. No. 1/3.
Ausgegeben am 22. Oktober 1934.

Effect of Meat Curing Solutions on Anaerobic Bacteria.

III. Sodium Nitrite.

[Department of Bacteriology, University of Illinois Urbana, Illinois.]

By **Fred W. Tanner and Florence L. Evans.**

The nitrites of sodium and potassium have an important role in imparting a desired red color, to cured meats. Food control officials have rightfully regulated the composition of curing solutions to prevent the addition of unnecessarily large amounts of certain constituents which might injure the health of the consumer.

Nitrites have recently been used in meat curing solutions as color fixatives. When nitrates are used, it is assumed that they are reduced to nitrites. During late years, evidence has been accumulating to indicate that nitrites may also function to some extent as preservatives. This paper reports results which have been secured in a study of this question. Results with sodium chloride and sodium nitrate have already been published [Tanner and Evans (1, 2)].

Use of nitrite in place of nitrate in the curing of meat is of more recent development. This practice arose from an observation made by Polenski (3, 4) that nitrite was present in old nitrate curing solution. He believed that reduction of nitrate to nitrite was accomplished by bacterial activity. Nothwang (5) made the same observation, but added that reduction might be due to the meat tissue itself. In light of Bernheim and Dixon's work (6), Polenski's explanation is more probable. Bernheim and Dixon found that muscular tissue from a considerable number of animals including the ox and the pig was completely without power to reduce nitrate to nitrite. Lehmann (7) and Kisskalt (8), working separately, found that red color of cured meat was due to nitrite and not to nitrate. Lehmann boiled fresh meat with nitrite in a weak acid solution and secured a product having the red color of cured meat. When treated with sodium nitrate, this red color did not appear. Kisskalt found in addition, that, if meat were allowed to stand several days in contact with nitrate, a red color would result. Haldane (9) proved that the color of meat cured with nitrate and nitrite was due to nitric-oxide-hemoglobin which was formed by the action of nitrous oxide on hemoglobin. He also found that the permanent pink color of boiled cured meat was due to a water insoluble compound which proved to be nitric oxide-hemochromogen. Hoagland (10, 11) repeated Haldane's experiments and obtained the nitric oxide-hemoglobin as the red colored element of cured meat. He concluded that neither nitrates nor nitrites, as such, had any influence in preserving the color of fresh meat. The brown color of meat cured with excessive nitrate was thought to be due to the action of sodium

nitrite on hemoglobin. An interesting observation was made by Klut (12), who noted that some waters would change the color of beef to a lighter or deeper red on boiling. Experiments showed that very small amounts of nitrite were sufficient to cause the change in color. Nitrate containing waters might give the color if they were allowed to remain in contact with zinc, for the metal acted as a reducing agent in this case and the nitrite so produced would cause the change in color.

After it had been shown that the active agent in color fixation was nitrite and not nitrate, efforts were made to use the former in curing solutions. Among the first to recommend it was Glage (13) who proposed the use of partially reduced nitrate prepared by heating dry saltpeter in a kettle. This procedure, of course, led to a product of unknown nitrate-nitrite composition which, when used in the curing of meat, gave somewhat irregular results. From this time on, however, commercial preserving salts containing nitrite made their appearance on the market. Auerback and Riess (14) found that meat cured with nitrite contained more of this salt than meat cured with nitrate. They found that meat exposed to the action of an ordinary curing solution containing five per cent potassium nitrate for several weeks, contained, at the most, a few milligrams of nitrite per 100 grams of meat. Amounts exceeding ten milligrams per 100 grams were found only in the surface portions. Curing solutions which contained a large amount of sodium nitrite caused it to penetrate uniformly into the meat. Ten to forty milligrams per 100 grams were found in surface samples. Auerback and Riess believed that amounts of sodium nitrite exceeding fifteen milligrams per 100 grams indicated that a nitrite cure had been used. Pollak (15) found that a nitrite cure was practical. The amount of nitrite in the finished product was even samller than usually found in meat cured with nitrate. Careful control was required in order to obtain good results. Experimental work on a commercial scale by Lewis, Vose, and Lowery (16) demonstrated that a nitrite cure, when properly carried out, yielded a product equal, or superior, to that resulting from a nitrate cure. The amount of sodium nitrite found to be most satisfactory was one tenth the amount of sodium nitrate usually used. The resulting product contained no more, and often less, nitrite than when the customary amount of saltpeter was used. These conclusions were, in general, concurred in by Kerr, Marsh, Schroeder, and Boyer (17).

The results of this investigation were confirmed by Riess, Meyer, and Muller (18) who compared the effects of curing solutions containing nitrite with those containing nitrate. They found that meat cured with nitrite never contained more than 10 mg. of sodium nitrite per 100 grams and frequently only a fraction of a milligram was found. They also pointed out that meat cured with two per cent saltpeter[1]) contained, in addition to the traces of sodium nitrite, 100 to 150 mg. of saltpeter. The possibility exists that this saltpeter may be transformed suddenly under uncontrolled conditions into nitrite. They recommended, as a result of their experiments, a salt mixture containing not more than 0.6 per cent sodium nitrite with sodium chloride. When this mixture was stored in dry rooms, very little destruction of nitrite occurred, but, when it was placed in wet rooms, appreciable loss took place in a short time. Riess, Meyer, and Muller

[1]) Saltpeter according to Riess, Meyer, and Muller refers to a mixture of sodium and potassium nitrates

found that the advantages of the use of 0.6% sodium nitrite curing mixtures are as follows: (1) a curing time of one half to one third that usually necessary with saltpeter; (2) thorough reddening of the meat and thorough salt penetration proceeded faster when this cure was used; (3) the nitrite content of the finished product was no larger and was frequently smaller than that receiving a nitrate cure; (4) the appearance, odor, flavor, and keeping quality of such products were equal to, or superior to, those cured with saltpeter.

The equivalence of sodium nitrate to sodium nitrite in meat curing has been stated to be 10 to 1 by Lewis and Moran (19); others have stated it to be 5 to 1 and lower. An exact equivalence which will hold under all conditions is probably not possible since the conditions which obtain in each separate experiment will greatly effect the results. Assuming that nitrites are somewhat germicidal, the number of nitrate-reducing bacteria influence the results. If nitrate reduction is slow, there will be less effective nitrite. At the Iowa Agricultural Experiment Station (20), nitrites proved effective in a concentration of from 1/10 to 1/20 that of nitrates generally used. A desirable color was not produced until the concentration of salt was at least 10 per cent. It is quite well established that constant equivalence values do not exist, for the amount of nitrite resulting from bacterial reduction of nitrate, would depend upon many different factors: type, numbers and activities of microorganisms, physical conditions which obtain in the curing solution, time of curing, etc.

Another factor of importance is that constant relationships do not seem to exist between the amount of ingredients in curing solutions and their incidence in cured meats. This seems to be borne out by data in publications of Kerr, Marsh, Schroeder, and Boyer (17) and others. This would seem to indicate, therefore, that it might be better to control amounts of nitrate and nitrite in the finished product than in the curing solution.

Saltpeter (sodium nitrate) has had the longest use in meat curing solutions. Since nitrates must be reduced to nitrites, packers desired to use nitrites as such to avoid the dangers which might result from inadequate conversion of nitrates to nitrites. Losses from uneven or inadequate fixation of color were not uncommon. Since many bacteria exist which may reduce nitrites, it is necessary to either add sufficient to fix color before it is used up or to have a constant source of supply (nitrates). The nitrate cure permitted this but the nitrite cure introduced the hazard of nitrite disappearance. Consequently, there may be much merit in the mixed cure in which both nitrates and nitrites are added. The nitrates may act as a reservoir for replacement of lost nitrite.

Regulation of the amounts of these salts used in meat curing solutions rests in the United States with the Bureau of Animal Industry and the bureau has rightfully been diligent to prohibit the use of unnecessarily large amounts. Too little is known, however, about the toxicity of nitrites in cured meat products.

The conditions caused by the World War made it necessary for the Secretary of the United States Department of Agriculture (21) to revise regulations to permit the immediate use of sodium nitrate (Chile saltpeter) in place of potassium nitrate for curing of meat in establishments where Federal inspection is maintained. This salt has been used since then in spite of the fact that many packers claim that better results are secured with

potassium nitrate. In 1922 (22) the United States Department of Agriculture amended the rules to permit among other things saltpeter and nitrate of soda.

Amendment 4 to B. A. I. Order 211, revised, issued October 19, 1925 (23) permitted the use of saltpeter, nitrate of soda, and nitrite of soda. This was indeed a mixed cure and a distinct departure from former practice. The bureau stated that meats could be successfully cured with quantities of sodium nitrite that would not result in the presence of more than 200 parts per million in the finished meats. It was stated that in general, the correct quantity of nitrite is approximately one-tenth that of nitrate. The substitution of one pound of nitrite for each 10 pounds of nitrate was recommended. The basis for this ratio (10 to 1) is hard to determine.

After use of excessive amounts of sodium nitrate in pumping pickle was observed by the Bureau of Animal Industry in 1926 (24), a warning was issued that amounts of saltpeter or sodium nitrate over one per cent would be held excessive in pumping pickle.

Immediately after release of these rulings, the bureau began to record itself in favor of a nitrite cure as the approved cure for comminuted meats and sausage. It was suggested that the use of nitrate be eliminated when as much as one-quarter oz. of sodium nitrite is used per 100 lbs. of meat. This opinion was based on the observations that satisfactory cured meat could be made with such a cure.

Although many meat packers favored the nitrite cure, others believed that a mixed cure containing both nitrate and nitrite, was more satisfactory. It was suggested that, although nitrites made cured meats red, a little residual nitrate would be desirable to act as a constant source of nitrites. Accordingly, in the fall of 1931, the chief of the Bureau of Animal Industry issued a statement permitting 1/4 oz. of nitrite, and 2 3/4 oz. of nitrate per 100 lbs. of meat in curing solutions. The arguments in favor of such mixed cures were several. The most important was that satisfactory cured meats had been prepared for years with a mixed cure and to change abruptly to the nitrite-cure would change the properties of the final products from those packing plants which had worked out a satisfactory procedure. Furthermore, it would be unnecessary to rely absolutely on the activities of nitrate reducing bacteria.

The practice in Germany was reviewed by Riess, Meyer, and Müller and need, therefore, not be reviewed here.

The amount of nitrite in cured meats naturally varies with the product and the method used for curing it. Moulton (26) has summarized the knowledge on this question. Lewis and Vose (27) reported from 42 to 53 parts per million of nitrite in a ham which had received a regular nitrate cure. Jones (28) reported from 72 to 960 parts per million of nitrite in American ham. In his published article the methods of sampling, analysis, and manipulation of the samples were not given. The amounts which would be secured would depend largely on the type of sample and its treatment after collection.

The ruling of the B. A. I. that the finished product should contain less than 200 parts per million is in many respects meaningless. Nothing was said as to how or when the samples were to be taken. It is apparent that a surface sample of a ham recently removed from a curing solution with 600 or 700 p.p.m. of nitrite would show nitrite content considerably in ex-

cess of 200 p.p.m. On the other hand, a sample from a deeply seated area in the ham would show a nitrite content well within the limits of 200 p.p.m. Unless the method of sampling is specified, a ruling such as the one under discussion, can but lead to confusion. A standard such as that just mentioned is meaningless unless standard procedures or methods are used in its enforcement. A surface sample would contain large amounts of nitrite while a sample from the center of the ham might contain very little.

Another very serious element for error is the technic used for preparation and handling of the sample. If the samples are not properly prepared and analyzed immediately, nitrate and nitrite data will be inaccurate. Bacteria may reduce nitrates and yield very high nitrite results, or, on the other hand, they may decompose the nitrites giving lower data than should be expected. Samples for the determination of nitrates must be analyzed promptly or stored under adequate refrigeration only for very short periods of time.

In some products such as spiced luncheon loaf in tin cans, the nitrite content decreases rapidly during storage. the rate of disappearance depending on the temperature of storage and probably the numbers and activity of the bacteria present. Ruyle and Tanner (29) in an examination of commercial canned meats did not find curing salts in sufficiently high concentration to prevent development of common anaerobes. After storage for several months the nitrite content in many cans is zero and almost so in the majority. Cooking, as carried out in the home, also destroys nitrite in cured meats. In experiments now in progress, it has been shown that boiling and frying frequently destroys all of the nitrites not even a trace showing on analysis even with products which have received a commercial nitrite or nitrate cure.

Nitrates are readily reduced to nitrites by many different chemical substances and microorganisms. In the preservation of meats with curing solutions containing nitrate only, it is well known that it must be reduced to nitrite before the color may be fixed.

Bacteria are known to be active in reducing nitrates and probably play the most important role in this respect in meat curing solutions containing nitrates. The subject has been studied mainly from the standpoint of agriculture and methods for determining the reduction with pure cultures. Maasson (30) studied the process with over 100 species of microorganisms in peptone broth containing 5% of potassium nitrate. Eighty-five of these species formed large amounts of nitrites. Maassen stated that the amount of potassium nitrate used hindered the growth of some of the bacteria. He also stated that some of them were hindered by the nitrite formed showing that it has a detrimental effect on bacteria. Results of investigations by many others have shown the importance of bacteria as nitrate-reducers.

It is possible that the meat itself may also reduce nitrates. Abelous and Gerard (31) reported results of an investigation which seemed to indicate the presence of an enzyme in horse flesh which reduced nitrates. Their conclusions have been criticized, however, on the basis that they did not work with sterile extracts and the reduction they attributed to the enzyme may have been brought about by microorganisms. Bernheim and Dixon obtained just the opposite results (6). Horovitz-Vlasova (32) has recently reported Bacillus halobicus, an obligate

halophilic organism which reduces nitrates to nitrites and then to free nitrogen. Zobell (33) showed that many bacteria could reduce nitrates to nitrites. The latter, in turn, were also reduceable. Stickland (34) reported nitrate reduction by Escherichia coli.

Nitrites may also be decomposed by bacteria and some of the loss in nitrite must be attributed to microorganisms.

Pharmacology of Nitrites.

The chemical properties of sodium and potassium nitrite made the pharmacology of these salts of importance in meat preservation. Most of the evidence in literature, however, involves ingestion of far larger amounts of nitrite than are used in meat curing and certainly larger amounts than would be found in cooked cured meats as they would be prepared for the table. There is no evidence as far as can be found in the literature, to indicate that the amounts of nitrite ordinarily found in cured meats are harmful.

Since sodium nitrite and nitrate have been added to meat curing solutions, many investigators have suggested that these salts might have a detrimental effect on the health of human beings. Important among the reports which have been published are those by Grindley and MacNeal (35). Physiologically, nitrites are very active, and they reached the conclusion that their poisonous action in large doses was due to two factors. The first was the effect on the blood. They found that animals poisoned with nitrite had had a large part of the blood oxyhemoglobin changed to methemoglobin. The second factor was the direct effect on the tissues. The nature of this action was not definitely known, but Grindley and MacNeal believed that it was direct tissue asphyxia. Nitrites have been found to be toxic for all animals examined, both hemoglobin containing and nonhemoglobin containing. This includes insects, arachnidae, protozoa, infusoria and mammals. Many plants were also injured by nitrites.

Riess, Meyer, and Müller (18) gave, as an introduction to their paper, a brief history of the use of nitrite in meat curing in Germany. Since 1916 it had been forbidden in the industrial preparation of meat products. The dangerous properties of the salt were demonstrated by the dosages regarded as permissable in medical practice. The German pharmacopoeia gave, as the largest single dose for an adult man, 0.3 gm. and as the largest daily dose 1.0 gm. The Swiss pharmacopoeia gave as the corresponding doses 0.1 gm. and 0.3 gm. Doses of 0.2 to 0.3 gms. can produce humming in the ears, vertigo, sensitivity to light, nausea, cyanosis, and irregularity in heart action. The literature was found to contain records of severe illness caused by 0.3 to 0.6 gms. It was considered in Germany that any material that affected the health of men in amounts of less than one gram should be used with the greatest care. However, they found by experiment that a carefully controlled curing process made possible the use of nitrite in the preparation of cured meats without the resulting product containing this substance in quantities sufficient to be detrimental to health. Riess, Meyer, and Müller's experimental work seemed to be complete. They found that substitution of nitrate with nitrite decreased the curing time by one-third. Addition of 0.6 per cent of nitrite to common salt was sufficient when using 80 gms. of salt for 1000 gms. of meat.

There are few data on the reaction of the salts of nitrous acid on bac-

teria, but one would suspect that a substance affecting so many other types of living things, might have some influence on such small organisms as bacteria. Lewis and Moran (19) found this to be the case. Their experiment included determinations of the effect of nitrite alone and also the effect of combinations of nitrite with sodium chloride. They found that 0.2 per cent of sodium nitrite, the lowest concentration used in their work, completely inhibited proteolysis in cultures of Clostridium putrifaciens. In another experiment using concentrations of 0.01 to 0.05 per cent, they observed no inhibition at any concentration below 0.05 per cent. Apparently, the effective concentration lies between 0.05 and 0.2% sodium nitrite. An experiment was also conducted with beef round covered with a solution containing nitrite, nitrate or chloride. The nitrite solutions contained 0.03, 0.06, 0.09, 0.12, and 0.18 per cent of sodium nitrite. After 9 days, growth and putrefaction were present in all the vessels containing nitrate and salt of concentrations ten times that of the nitrite. The nitrite-beef combinations showed no evidence of spoilage even after 21 days. This would seem to indicate that nitrite is very effective in inhibiting bacterial growth even in very low concentrations. The actual amount of effective nitrite must have been lower than the percentage concentrations appearing in the tables, for the amount of meat added was not considered in the calculations. The effect of nitrite, according to these data, must be different for Clostridium putrefaciens than for the ordinary meat flora. Whether inhibition of bacteria would be noticeable in the curing cellar is another matter.

The experiment on the effect of combinations of sodium nitrite and sodium chloride was performed with Clostridium sporogenes as the test organism. Proteolysis for the 48 hour period was inhibited at 0.05 per cent sodium nitrite in all the salt concentrations from one per cent to five per cent. However, for the seven to fourteen day period, proteolysis was observed in all nitrite concentrations from zero to 0.2 per cent (the highest sodium nitrite concentration used) in all the tubes containing zero to two per cent salt. In other words, after two weeks incubation, growth had appeared over the entire range in the tubes containing nitrite only. Proteolysis was checked in nitrite concentrations at and above 0.05 per cent in salt concentrations from three per cent to five per cent. In another similar experiment, these authors found that concentrations of 0.05 per cent and above prevented proteolysis in the absence of salt for the same incubation period. The difference between the effective concentration for these two experiments is the difference between 0.05 per cent and 0.2 per cent or 0.15 per cent.

Some attention has also been given to the formation of nitrites from nitrates in the intestines and the possible evil effects of the former. Barth (36) in 1879 studied the effect of Chile Saltpeter on animals which had accidentally ingested it. Symptoms of illness resulted including weakness, unconsciousness, muscle twitchings, etc. Barth attributed the symptoms to nitrites formed from the nitrates, an opinion which was not generally accepted by toxicologists. Binz and Gerlinger (37) confirmed Barth's work and believed that nitrite poisoning occurred. The experiments just reported leave the situation in an unsatisfactory state. Clear-cut conclusions cannot be reached on the toxicity of nitrites in foods. It is evident, also, that the amounts of nitrite used in the above experiments were considerable greater than would be found in cured meats.

A comprehensive investigation of the effect of saltpeter in the diet was carried out at the University of Illinois in 1907 and 1908 (35). Twenty-four subjects were used in these experiments. The results of this investigation indicated that potassium nitrate as used in meat curing solutions showed no effect on the subjects. Mathews (38), who studied the pharmacology of nitrates and nitrites in this investigation, stated that the potassium in the potassium nitrate could be disregarded when the nitrate was taken in such small doses as those given in the experiments. The nitrate ion, in itself, was said to possess about the same physiological power as the chlorine ion. Sodium nitrate as such was said to have the same action on metabolism and nearly all tissues of the body as sodium chloride.

The situation for sodium nitrite is apparently different. Mathews quoted a number of cases of illness following ingestion of nitrites but the amounts were usually greatly in excess of those used in curing solutions. Data from injection experiments are not pertinent to this discussion.

Experimental.

These experiments were carried out to determine whether or not sodium nitrite in concentrations approximating those added to meat curing solutions had any effect on the putrefactive anaerobes, some of which are frequently involved in meat spoilage according to Klein (39) and McBryde (40). Special attention was given to *Clostridium botulinum* because of the dangerous properties of the toxin formed by this organism.

Twelve strains of spore formers were used as follows: *Clostridium botulinum* type A, cultures 1 and 2; *Clostridium botulinum* type B, cultures 5, 6, 7, 8, and 9; *Clostridium putrificum*, cultures 12 and 13; and *Clostridium sporogenes*, cultures 10, 11 and 14. These were grown in four different media to which various concentrations of sodium nitrite had been added.

The technic used needs no special discussion since it differed in no way from that used in experiments, results of which have been published recently in this journal. Special attention was given, however, to sterility of apparatus and media. All media were incubated before use and all apparatus after especially long heating was tested with media which had passed sterility tests. This is necessary in work involving the use of such microorganisms as thermophilic bacteria and spore-forming anaerobic bacteria.

Nitrites are destroyed by the action of meat tissues and heat. It was found that they decreased in media during storage. Determinations were made when the medium was inoculated. Nitrites added to media before sterilization were uniformly destroyed to a great extent.

Plain Broth: Sterile nutrient bouillon was inoculated by means of Pasteur pipettes with approximately ¼ cc. of an uniform, detoxified, spore suspension. This had been prepared from cultures growing in brain mash. These cultures were incubated at 37° C. for two weeks; then they were stored at room temperature for the remainder of the incubation period. Growth was detected by comparing the tubes with corresponding ones containing no nitrite and uninoculated tubes containing a small amount of sterile brain mash medium. Only small amounts of gas were produced by these organisms when grown in this medium. The most reliable criterion of growth seemed to be turbidity. This was transient and lasted from a day or two

to a week or more. Toxicity was determined for each Clostridium botulinum culture by feeding a portion of it to a guinea pig.

Sodium nitrite was added to the medium in the following concentrations: 0.149, 0.187, 0.2234, 0.239, 0.299, 0.337, 0.374, and 0.449%. After sterilization and the preliminary incubation, sodium nitrite determinations were made on representative tubes from each lot of the medium. The concentrations thus obtained were as follows: 0.1372, 0.1568, 0.2352, 0.2744, 0.3528, 0.392, 0.490, and 0.588%.

Results: Both growth and toxin formation showed considerable irregularity. Visible growth appeared to be inhibited in six out of seven of Clostridium botulinum cultures by the lowest concentration of sodium nitrite (0.1372%) and the two highest ones (0.490 and 0.588%). All of them grew in this medium containing 0.2352 and 0.2744%. Clostridium putrificum and Clostridium sporogenes cultures grew more evenly. The only concentration that showed appreciable inhibition for the latter organisms was the highest one. Of the entire group of cultures, only three grew in this concentration (0.588%).

Toxin formation, while quite irregular, yielded more understandable results. If the "skips" are disregarded, the lowest concentration which prevented toxic Clostridium botulinum cultures was 0.3528%, and the lowest one which inhibited all toxin formation was 0.490% of sodium nitrite. Toxin formation and growth did not necessarily show simultaneously in a culture. For instance, Clostridium botulinum failed to show growth, except in one instance, in 0.1372%, but all but one of these cultures formed toxin in this concentration. On the other hand, cultures 7, 8, and 9 grew in 0.3528%, but failed to form toxin when this amount of sodium nitrite was present. Occasional failure of growth to accompany the appearance of toxin in cultures may be explained by the fact that the former is not always easily determined visually.

Glucose Broth: Glucose broth was made up in lots containing 0.149, 0.187, 0.2243, 0.239, 0.299, 0.337, 0.374, and 0.449% of sodium nitrite (before sterilization). It was inoculated, as in the previous experiments, with approximately 1/1 cc. of heated, uniform spore suspensions of the organisms. The incubation period was two weeks in the 37° C. incubator and several months at room temperature. Growth was detected by gas formation and turbidity of the medium. Considerable gas was formed in this medium. Turbidity, although transient, was also important evidence of development. A portion of each of the Clostridium botulinum cultures was fed to a guinea pig in order to detect presence of toxin.

The concentration of sodium nitrite was determined after sterilization and two weeks preliminary incubation. It was found that the amounts of sodium nitrite present at the time of inoculation were: 0.1372, 0.1764, 0.2352, 0.2744, 0.294, 0.392, 0.490, and 0.588%. These concentrations correspond to a range of 1,372 parts per million to 5,880 parts per million.

Results: Under the conditions of this experiment, the repressing effect of nitrite was extremely irregular. The tubes that showed growth were scattered over the entire range excepting the last concentration (0.588%). Fewer tubes among those inoculated with Clostridium botulinum showed growth than among those inoculated with Clostridium putrificum and Clostridium sporogenes. Only one culture of Clostridium botulinum showed growth in concentrations

above 0.294% of sodium nitrite, but it is doubtful whether significance can be attached to this observation. The highest concentration, 0.588%, prevented growth of all the organisms used.

Clostridium botulinum formed toxin in the lowest concentration of sodium nitrite in all cases, and two strains formed it in the next concentration (0.1764%). None of the tubes containing 0.2352 and 0.2744% proved toxic, but cultures 6 and 8 formed toxin in 0.294% and culture 5 was toxic in 0.392% of sodium nitrite. None of the cultures formed toxin in 0.490 and 0.588%, the highest concentrations used.

Egg-Meat Medium: Tubes of sterile egg-meat medium were inoculated with detoxified spore suspensions of the organisms. The same amount of detoxified spore suspension (1/4 cc.) was introduced into the bottom of the tubes by means of Pasteur pipettes. The inoculated cultures were incubated for two weeks at 37° C. and at room temperature for several months. Tubes which had been inoculated with Clostridium botulinum were tested for toxicity by feeding portions of the contents to guinea pigs.

Sodium nitrite was added to the medium in such amounts that the concentrations were: 0.149, 0.187, 0.2243, 0.239, 0.299, 0.337, 0.374, and 0.449% by weight of the C. P. salt. Colorimetric determinations of the sodium nitrite were made at the time of inoculation, and the following amounts were found: 0.0588, 0.0882, 0.1862, 0.1862, 0.1862, 0.2156, 0.3724, and 0.392%.

Results: Sodium nitrite failed to completely inhibit growth in any of the concentrations used in egg-meat medium. The amount of growth was smaller than in the corresponding controls in most cases as judged by the amount of gas present in the respective tubes. Growth also appeared later in the tubes containing sodium nitrite than it did in those containing none of this salt.

Toxin was produced by the Clostridium botulinum cultures in a most irregular manner. Only three of the seven strains did not produce "skips". Four of the seven strains were inhibited by concentrations above 0.0882% (0.1862—0.392%). One of the remaining strains produced toxin in the highest concentration used, which was 0.392%.

Pork Infusion: Tubes of sterile pork infusion medium were inoculated with uniform suspension of detoxified spores. The same cultures were used as in the other experiments. The inoculated tubes were incubated at 37° C. for two weeks and were then held at room temperature for several months. Growth was said to have occurred when gas was present, when digestion of the meat had taken place, and when a detectable odor was present. Toxin formation in the tubes inoculated with Clostridium botulinum was detected by feeding portions of the contents to guinea pigs.

The medium was prepared in lots containing 0.149, 0.187, 0.2243, 0.239, 0.299, 0.337, 0.374, and 0.449% by weight of C. P. sodium nitrite. After sterilization and preliminary incubation, colorimetric determinations of the amount of nitrite were made. It was found that the concentrations present at the time of inoculation were: 0.0588, 0.0784, 0.1372, 0.1470, 0.1666, 0.1764, 0.2548, and 0.3136%.

Results: Complete inhibition of growth in any culture with any concentration of sodium nitrite used was not observed. In most cases, less gas was formed in cultures containing the compound than in cultures without it, but at the end of the incubation period, growth was evident in all of them.

Toxin formation by Clostridium botulinum was affected to some extent by sodium nitrite, but so many irregularities were observed, that definite conclusions cannot be drawn as to the effective concentration of the compound in this medium. Two strains formed potent toxin in the highest concentration used (0.3136%). One strain (culture 6) produced toxin in pork infusion medium throughout the entire range of sodium nitrite concentrations tested.

Table 1. Strains showing growth.

Pork Infusion		Egg Meat Medium		Nutrient Bouillon		Glucose Bouillon	
% $NaNO_2$		% $NaNO_2$		% $NaNO_2$		% $NaNO_2$	
0	All strains	0	All strains	0	All strains	0	All strains
0.0588	,, ,,	0.0588	,, ,,	0.1372	6, 10, 11, 12, 13, 14	0.1372	6, 9, 10, 11, 12
0.0784	,, ,,	0.0882	,, ,,	0.1568	6, 7, 8, 10, 12, 13, 14	0.1764	2, 9, 14
0.1372	,, ,,	0.1862	,, ,,	0.2352	All strains	0.2352	2, 5, 6, 9, 10, 11, 12, 13, 14
0.1470	,, ,,	0.1862	1, 2, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14	0.2744	,, ,,	0.2744	1, 5, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14
0.1666	,, ,,	0.1862	All strains	0.3528	2, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14	0.2940	1, 2, 6, 9, 10, 11, 12, 13
0.1764	,, ,,	0.2156	,, ,,	0.3920	1, 2, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14	0.3920	9, 11, 12, 13, 14
0.2548	,, ,,	0.3724	,, ,,	0.4900	6, 10, 11, 12, 13, 14	0.4900	7, 9, 10
0.3136	,, ,,	0.3920	,, ,,	0.5880	6, 10, 14	0.5880	

Table 2. Strains of Clostridium botulinum producing toxin.

Pork Infusion		Egg Meat Medium		Nutrient Bouillon		Glucose Bouillon	
% $NaNO_2$		% $NaNO_2$		% $NaNO_2$		% $NaNO_2$	
0	1, 2, 5, 6, 7, 8, 9	0	1, 2, 5, 6, 7, 8, 9	0	1, 2, 5, 6, 7, 8, 9	0	1, 2, 5, 6, 7, 8, 9
0.0588	1, 6, 8	0.0588	1, 2, 5, 6, 7, 8	0.1372	1, 2, 6, 7, 8, 9	0.1372	1, 2, 5, 6, 7, 8, 9
0.0784	1, 2, 6, 7, 8	0.0882	1, 6, 7	0.1568	2, 5, 6, 7, 8, 9	0.1764	1, 7
0.1372	1, 6	0.1862	1, 5	0.2352	1, 5, 7, 8, 9	0.2352	
0.1470	2, 5, 6	0.1862	1, 2	0.2744	2, 5, 6, 7, 8, 9	0.2744	
0.1666	5, 6, 9	0.1862	5	0.3528	2, 6	0.2940	6, 8
0.1764	5, 6, 7	0.2156	2	0.3920	1, 2, 5, 6	0.3920	5
0.2548	6, 7	0.3724	1	0.4900		0.4900	
0.3136	6, 7	0.3920	1	0.5880		0.5880	

Discussion: The discrepancy between the concentrations of sodium nitrite added and found upon analysis presents a different problem than in the case of sodium chloride and sodium nitrate. In plain broth and glucose broth, analysis showed lowered nitrite contents for the two lowest concentrations. The third in the series showed approximate equality, although the figures obtained by analysis are slightly higher. In plain broth the higher percentages showed more sodium nitrite upon analysis than was

added in the beginning. This is also true of glucose broth except in the fifth concentration where the values are approximately the same. This might be explained as follows: A small amount of sodium nitrite is destroyed by sterilization. In the lower concentrations this is not entirely made up by evaporation, but in the higher concentrations the small quantity destroyed is not as important a factor as the comparatively large increase due to evaporation. When the substrate used was either egg-meat or pork-infusion media the concentration of sodium nitrite, found upon analysis, was always smaller than the amount added to begin with. The loss amounted to 0.1—0.15% over the entire range. It is attributed to the destruction of sodium nitrite by the meat protein in the medium which presumably acted as a reducing agent and the heat of sterilization. A comparison of the final sodium nitrite values obtained after adding the same amounts of this salt to the various media is given below:

Amount secured by Analysis after Sterilization.

Amount added %	Glucose Broth %	Plain Broth %	Pork Infusion %	Egg-Meat %
0.149	0.1372	0.1372	0.0588	0.0586
0.187	0.1764	0.1568	0.0784	0.0882
0.2243	0.2352	0.2352	0.1372	0.1862
0.239	0.2744	0.2744	0.1470	0.1862
0.299	0.2940	0.3528	0.1666	0.1862
0.337	0.3920	0.3920	0.1764	0.2156
0.374	0.4900	0.4900	0.2548	0.3724
0.449	0.5880	0.5880	0.3136	0.3920

The results of these four experiments tend to show that the amounts of sodium nitrite used cannot be relied upon to suppress either growth or toxin production by Clostridium botulinum, or to prevent the growth of Clostridium putrificum and Clostridium sporogenes. It is evident that the higher concentrations of sodium nitrite do not allow the formation of as many toxic cultures as the low concentrations. However, these data must be interpreted with caution, for each strain may have been harmless for guinea pigs when grown in some concentrations, and yet form a potent toxin in tubes containing higher concentrations of sodium nitrite. In the case of glucose or nutrient broth, it seems safe to conclude that 0.490 per cent and 0.588 per cent, in either of these media, completely represses toxin formation under the conditions of the experiment. As far as growth is concerned, inhibition of nine out of twelve cultures in plain broth, and of all the cultures in glucose broth by 0.588 per cent of sodium nitrite were the only definite evidence of a harmful action on the part of this salt. When it is considered that the amount of sodium nitrite in the tests where a meat medium was used ranged from about three times to about 19 times the maximum allowed in finished cured meats, it is evident that reliance cannot be placed upon this salt alone to prevent spoilage by such organisms as were used here, when other conditions are favorable for their growth.

Conclusions.

1. Concentrations of sodium nitrite from 0.1372 to 0.588% in plain broth cannot be relied upon to prevent growth of all strains of Clostridium botulinum, Clostridium putrificum, and Clostridium sporogenes.

2. A concentration of 0.588% of sodium nitrite in glucose broth inhibited twelve strains of putrefactive anaerobes, including: Clostridium botulinum types A and B, Clostridium putrificum, and Clostridium sporogenes.

3. Concentrations of 0.490 and 0.588% completely inhibited toxin formation by Clostridium botulinum types A and B in both plain broth and glucose broth.

4. Concentrations of sodium nitrite from 0.0588 to 0.3920% failed to inhibit Clostridium botulinum, Clostridium putrificum, and Clostridium sporogenes in either pork infusion of egg-meat medium under the conditions of the experiments.

5. Concentrations of 0.0588 to 0.3920% did not prevent toxin formation by all strains of Clostridium botulinum when grown in either egg-meat medium or in pork infusion.

6. The concentrations of sodium nitrite present in cured meat cannot be relied upon, in itself, to prevent spoilage or toxin formation by these organisms.

Bibliography.

1. Tanner, Fred W., and Evans, Florence L., Effect of Meat Curing Solutions on Anaerobic Bacteria. I. Sodium Chloride. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 88. 1933. S. 44—54.) — 2. Tanner, Fred W., and Evans, Florence L., Effect of Meat Curing Solutions on Anaerobic Bacteria. II. Sodium Nitrate. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 89. 1933. S. 48—54.) — 3. Polenski, E., Über den Verlust, welchen das Rindfleisch und Nahrwert durch das Pökeln erleidet, sowie uber die Veranderungen salpeterhaltiger Pökellaken. (Arb. a. d. Kaiserlichen Gesundheitsamt. Bd. 7. 1891. S. 471—474.) — 4. Polenski, E., Über das Pokeln von Fleisch in salpeterhaltigen Laken. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 9. 1892. S. 126—135.) — 5. Nothwang, Fr., Der Salpetergehalt verschiedener Fleischware und der Pokelprozeß. (Arch. f. Hyg. Bd. 16. 1892. S. 122—150.) — 6. Bernheim, F., and Dixon, M., The Reduction of Nitrates in Animal Tissues. (Biochem. Journ. Bd. 22 1928. S. 125—134.) — 7. Lehmann, Sitzb. Physikal. Med. Ges. Wurzburg. Bd. 4. 1899. S. 57. — 8. Kisskalt, K., Beitrage zur Kenntnis der Ursachen des Rotwerdens des Fleisches beim Kochen nebst einigen Versuchen uber die Wirkung der schwefligen Saure auf die Fleischfarbe. (Arch. f. Hyg. Bd. 35. 1899. S. 11—18.) — 9. Haldane, J., The Red Colour of Salted Meat. (J. Hyg. Bd. 1. 1901. S. 115—122.) — 10. Hoagland, R., The Action of Salpeter upon the Color of Meat. (Bull. of Animal Ind. Bull. 1908. p. 301—314.) — 11. Hoagland, R., Coloring Matter of Raw and Cooked Salted Meat. (Journ. Ag. Res. Vol. 3. 1914. p. 211—226.) — 12. Klut, The Reddening of Meat on Boiling with Water. (Mitt. Kgl. Landesamt Wasserhyg. Bd. 17. 1913. S. 36—39.) — 13. Glage, Die Konservierung der roten Fleischfarbe. Berlin 1909. — 14. Auerbach and Riess, Arb. d. Reichsgesundheitsamtes. Bd. 51. 1919. S. 532—544. — 15. Pollak, L., Über vergleichende Pökelversuche von Fleisch unter Zusatz von Salpeter und Natriumnitrit zur Lake. (Zeit. Angew. Chem. Bd. 35. 1922. S. 229—232.) — 16. Lewis, W. L., Vose, R. S., and Lowery, C. D., Use of Sodium Nitrat in Curing Meats. (Ind. and Eng. Chem. Vol. 17. 1925. p. 1243—1245.) — 17. Kerr, R. H., Marsh, C. T. N., Schroeder, W. F., and Boyer, E. A., The Use of Sodium Nitrite in the Curing of Meat. (Journ. Agric. Res. Vol. 33. 1926. p. 541—551.) — 18. Riess, G., Meyer, R. und Muller, W., Vergleichende Versuche über die Verwendung von Salpeter und Nitrit (salpetrigsaurem Natrium) bei der Zubereitung von Fleischwaren. (Zeit. f. Untersuchung d. Lebensmittel. Bd. 55. 1928. S. 325—354.) — 19. Lewis, W. L., and Moran, J., The Present Status of our

Knowledge of Ham Souring. (Inst. Amer. Meat Packers. Bull. IV.) — 20. Bacteriology of Meat Curing. (Ann. Rept., Iowa Ag. Exp. Sta. 1926. p. 28—29.) — 21. Bureau of Animal Industry, Service and Regulatory Announcement. Sept. 1914. — 22. Rev. 18, Sec. 6, Par. 2, B. A. I., Order 211, Revised Issued Dec. 2, 1922. — 23. Service and Regulatory Announcements. Bureau of Animal Industry. Jan. 1925. — 24. Service and Regulatory Announcements. Bureau of Animal Industry. Jan. 1926. — 25. Unpublished. — 26. Moulton, C. R., Meat Through the Microscope. Univ. of Chicago Press 1929. — 27. Lewis, W. L., and Vose, R. S., The Use of Sodium Nitrite in Curing Meat. (Dept. Sci. Res. Inst. Amer. Meat Packers, Chicago. 1929.) — 28. Jones, O., Nitrite in Cured Meat. (The Analyst. Vol. 58. 1933. p. 140—143.) 29. Ruyle, E. H., The Microbiology of Canned Meat Products. Dissertation. Univ. of Ill. 1933. — 30. Maassen, Die Zersetzung der Nitrate und der Nitrite durch Bakterien. (Arb. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 18. 1902. p. 21—77.) — 31. Abelous, J. E., and Gerard, E., Sur la présence dans l'Organisme animal d'un ferment Soluble Reducteur Pourvoir Reducteur des Extraits d'Organes. (Comp. Rend. Acad. Sci. T. 129. 1899. p. 164—166, 1023—1025.) — 32. Horovitz-Vlasova, L. M., Experimental Study of the Problem of Salt Pork Production. (Trans. Title.) (Izvestiya Tzentral. Nauch-Issledovatel. Inst. Pischevoi Vkusovoi Prom. p. 6—35. Sept. 1931.) — 33. Zobell, C. E., Factors Influencing the Reduction of Nitrates and Nitrites by Bacteria in Semisolid Media. (J. Bact. Vol. 24. 1932. p. 273—281.) — 34. Stickland, L. H., The Reduction of Nitrates by B. Coli. (Biochem. Journ. Bd. 25. 1931. p. 1543—1544.) — 35. Grindley, H. S., and MacNeal, W. J., Studies in Nutrition: An investigation of the Influence of Saltpeter on the Nutrition and Health of Man with Reference to its Occurrence in Cured Meats. Univ. of Illinois 1917. — 36. Barth, Taxikologische Untersuchungen über Chilisalpeter. Inaug.-Dissert. Bonn 1879. — 37. Binz, C., and Gerlinger, P., Die Reduktion des Natriumnitrates im Tierkörper. (Arch. Intern. Pharmaco-dyn. et Ther. T. 9. 1901. p. 441—450.) — 38. Mathews, A. P., The Pharmacology of Nitrates and Nitrites. Univ. of Illinois 1917. — 39. Klein, E., On the Nature and Causes of Taint in Miscured Hams. (The Lancet. June 27, 1908. v. 174.) — 40. McBryde, C. N., A Bacteriological Study of Ham Souring. (U. S. Dept. Ag., Bu. Animal Ind. Bull. 132. 1911.)

Über den Einfluß der Temperatur und der Jahreszeit auf die biologische Abwasserreinigung.

[Aus dem Laboratorium der städtischen Kläranlagen in Leipzig.]

Von **Karl Viehl**, unter Mitarbeit von **Bernhard Meißner**.

Mit 3 Abbildungen im Text.

Die vorliegende Arbeit stellt einen Versuch dar, die Wirkung der Temperatur und der Jahreszeit auf die biologische Abwasserreinigung, insbesondere das Belebtschlammverfahren in chemischer und biologischer Hinsicht zahlenmäßig zu erfassen. Außerdem wurde versucht zu ermitteln, ob bei diesem Prozeß noch eine jahreszeitliche Schwankung vorliegt, die unabhängig von der Temperatur ist. Dies schien besonders in biologischer Hinsicht von Interesse, weil bei der Abwasserreinigung die Bedingungen — abgesehen von der Temperatur, die sich aber nur verhältnismäßig wenig ändert, und einer geringen jahreszeitlichen Schwankung in der Zusammensetzung des Abwassers — keinen durch den Wechsel der Jahreszeiten hervorgerufenen regelmäßigen Schwankungen unterliegen, vielmehr in dieser Hinsicht so konstant sind, wie dies selten in der Natur der Fall ist. Dabei

kann man die Bedingungen nicht als laboratoriumsmäßige bezeichnen, sondern sie sind denen in der freien Natur sehr ähnlich.

Die durchgeführten Untersuchungen bestehen entsprechend der Fragestellung aus zwei Teilen. Einmal wurde durch Laboratoriumsversuche der Einfluß der Temperatur auf das Belebtschlammverfahren ermittelt. Außerdem wurden 4 Belebtschlammanlagen über 2 Jahre und eine Tropfkörperanlage 1½ Jahre lang in chemischer und biologischer Hinsicht beobachtet und die erhaltenen Daten nach Jahreszeiten zusammengestellt.

I. Einfluß der Temperatur.

Methodisches.

Die Versuche über den Einfluß der Temperatur wurden in derselben Weise durchgeführt und kontrolliert, wie es bereits für eine frühere Versuchsreihe beschrieben ist (1), also in Laboratoriums-Belebtschlammanlagen nach Sierp. Die Belastung sowie die Belüftungsstärke wurden möglichst den Verhältnissen der Praxis angepaßt. Die Anlagen wurden auch nicht gefüllt und nach Beendigung des Reinigungsvorganges wieder abgelassen, sondern ständig langsam durchflossen. Die Belüftungsdauer betrug 7½ Std. Die Zulaufflaschen faßten 11 l und wurden zu Mittag und Mitternacht mit mechanisch gereinigtem Abwasser von der Leipziger Hauptkläranlage gefüllt.

Es wurden zunächst nur die Temperaturen variiert, die übrigen Bedingungen waren bei allen Anlagen dieselben. Die Durchschnittstemperaturen bei dieser Reihe betrugen 1,5, 8, 17, 26, 29, 35, 45 und 55° C. Außerdem wurden noch einige Versuche mit 15- bzw. 4 stünd. Belüftungsdauer durchgeführt, die aber hauptsächlich nur chemisch kontrolliert wurden. Jeder Versuch lief, abgesehen von der Einarbeitungszeit, mindestens 6 Wochen. Für die bei höheren Temperaturen betriebenen Anlagen wurde der Schlamm von der mit der nächst niederen Temperatur übernommen, so daß die Lebewesen bereits an die Wärme gewöhnt waren. Nach einer Woche waren die Anlagen dann eingearbeitet. Nur bei dem Versuch bei 1,5°, zu dem Belebtschlamm von Zimmertemperatur verwandt worden war, dauerte die Einarbeitungszeit wesentlich länger. Die Versuche bei 8, 17, 26 und 35° wurden gleichzeitig durchgeführt. Andere Einflüsse als die der Temperatur, wie Jahreszeit, Unterschiede in der Beschaffenheit des Abwassers und dergl. waren also ausgeschaltet. Die Anlagen von 1,5 und 8° wurden während der Wintermonate in einem ungeheizten, bzw. schwach geheizten Raume aufgestellt, zu dem Versuch bei 1,5° wurde das Wasser außerdem noch von außen mit Eis gekühlt. Die Anlage von 17° wurde bei Zimmertemperatur ohne weitere Heizung betrieben. Die anderen Anlagen mit höherer Temperatur standen im Wasser- bzw. Glyzerin-Bad und wurden von unten elektrisch geheizt. Die stärkste Abweichung von der mittleren Temperatur betrug 6°. Doch traten solche extremen Temperaturen nur ausnahmsweise auf, plötzliche Temperaturschwankungen kamen nicht vor.

Ergebnisse in chemischer Hinsicht.

Die Ergebnisse der vorgenommenen chemischen Untersuchungen sind aus Tab. 1 und Abb. 1 und 2 zu ersehen. Die Daten zeigen, daß die Wirkung der Temperatur im einzelnen ganz verschieden ist. Am stärksten wird die Nitrifikation beeinflußt.

Tab. 1. Einfluß der Tempe-

Belüftungsdauer Std.	Temper.-Durchschnitt (Niedrigste — höchste) °[1]	Versuchsdauer (ohne Einarbeitungszeit)	Belebtschlamm % Wasser (1 Std. Absitzen)	Belebtschlamm % Organ. Substanz/Trockensubstanz	Überschußschlamm ccm/l	Überschußschlamm mg/l	Schriftprobe mm	Permanganatverbrauch Zulauf mg/l	Permanganatverbrauch Ablauf mg/l (% Abnahme)
7½	1,5 (0—5)	29. 11. 33— 9. 1. 34	96,82	69,2	1,9	60	41	322	189 (11,3)
	8 (2—12)	15. 11. 32— 28. 2. 33	99,23	74,6	15,0	116	120	280	128 (51,3)
	17 (11—21)	1. 11. 32— 28. 2. 33	99,58	73,8	45,9	172	201	271	105 (61,3)
	26 (23—29)	18. 1. 33— 28. 2. 33	99,71	(74,7)	55,5	161	348	277	(104) (62,5)
	29 (24—32)	1. 11. 32— 19. 12. 32	99,53	72,1	37,5	170	367	269	(97) (63,9)
	35 (33—39)	18. 1. 33— 28. 2. 33	99,43	67,5	(10,4)	(60)	120	277	(157) (43,3)
	45 (39—49)	8.—28. 11. 32, 31. 3.—3. 5. 33	97,66	55,5	0,0	0,0	57	250	153 (38,8)
	55 (50—58)	6. 5. 33— 28. 7. 33	(95,32)	(46,1)	0,0	0,0	49	228	217 (1,8)
15	11 (5—17)	1. 3. 33— 13. 4. 33	99,19	69,1	12,0	97	185	330	103 (68,8)
4	25 (22—28)	17. 1. 34— 27. 2. 34	99,38	73,7	—	—	200	306	119 (61,1)

[1]) p_H-Wert bei Zimmertemperatur zu derselben Zeit 7,27.

die bei 1,5° innerhalb der angewandten Belüftungsdauer überhaupt nicht erfolgte und bei 8° nur ganz schwach war. Das Optimum der Nitratbildung wurde bei 26° und das der Nitritbildung bei 35° gefunden. Oberhalb 40° traten nur noch Spuren von Nitrit und Nitrat auf. Bei 25° wurde innerhalb 4 Std. ebensoviel Nitrat gebildet wie bei 11° in 15 Std., so daß die Nitrifikation danach durch eine Temperaturerhöhung von 11° auf 25° um etwa das Vierfache beschleunigt wird. Sie verläuft also innerhalb dieses Temperaturbereiches nach der van 't Hoffschen Regel, nach der durch eine Temperaturerhöhung um 10° eine Steigerung der Reaktionsgeschwindigkeit um das 2—3fache eintritt. Ungefähr das Gleiche gilt für die Abnahme des Ammoniak-Stickstoffs zwischen 2 und 25°. Die Zunahme der Reduktion des Ammoniak-Stickstoffs, die bei 55° gegenüber 45° erfolgte, ist physikalischer Natur.

Entsprechend der wachsenden Nitrifikationsgeschwindigkeit sank mit steigender Temperatur zunächst der p_H-Wert des gereinigten Abwassers, um dann bei 35° wieder langsam, bei 45° stärker zuzunehmen. Sehr intensiv war auch die Wirkung der Temperatur auf die Klarheit des Wassers (Schriftprobe). Die Parallelität dieser Kurve mit der für den Nitratstickstoff ist auffallend.

ratur, chemische Daten.

Stickstoff: Ammoniak-N Zulauf mg/l	Ammoniak-N Ablauf mg/l (% Abnahme)	Nitrit-N Ablauf mg/l	Nitrat-N Ablauf mg/l	Organisch N Zulauf mg/l	Organisch N Ablauf mg/l (% Abnahme)	Sauerstoff: Gehalt Ablauf mg/l	5 tägige Zehrung Zulauf mg/l	5 tägige Zehrung Ablauf mg/l (% Abnahme)	pH-Wert Ablauf
61,5	60,5 (1,7)	Spur	0,0	20,8	(9,4) (54,8)	7,83	341,0	(59,9) (82,4)	7,79[1])
57,1	50,5 (12,0)	0,2	0,3	14,9	5,2 (65,1)	—	281,7	22,4 (92,0)	7,96
54,1	34,0 (37,1)	2,7	8,5	15,3	2,3 (85,0)	—	281,7	12,7 (95,4)	7,85
55,0	10,5 (80,9)	6,5	19,0	14,9	2,8 (81,2)	—	281,7	11,9 (95,8)	7,74
53,0	11,0 (79,2)	12,5	10,5	15,8	3,1 (80,4)	—	—	—	7,63
57,4	9,8 (82,9)	14,7	9,0	14,9	4,0 (73,2)	—	281,7	12,1 (95,6)	7,97
49,0	33,0 (32,7)	0,2	0,2	15,6	9,5 (39,1)	2,7	211,9	34,6 (83,7)	8,43
42,0	19,0 (54,8)	Spur	0,0	17,6	13,6 (22,7)	1,7	217,0 514,0[2])	84,0 (61,3) 281,0[2]) (45,3)[2])	8,40
48,0	35,0 (27,0)	1,0	6,5	—	2,2	—	—	10,7	—
60,0	33,0 (45,0)	1,9	7,0	—	—	—	—	—	—

[2]) Zehrung nach 20 Tagen.

Ähnliche Feststellungen betreffs der Nitrifikation durch den Belebtschlamm bei verschiedenen Temperaturen machte bereits Cambier (2), nur verwandte dieser ein sehr dünnes Abwasser, so daß hier der Ammoniak-Stickstoff auch noch bei 0° zwar langsam, innerhalb 17 Std. aber vollständig oxydiert wurde. Sierp (3) fand das Optimum der Nitratbildung durch Belebtschlamm bei 20°. Für die Nitrifikation im Boden liegt die Optimal-Temperatur nach Untersuchungen von Schlösing und Müntz, Löhnis, von Bazarewski (4) und anderen bei etwa 30°. Die Nitratbildung kann dort, wenn auch langsam, noch bei 0° erfolgen, dagegen ist sie oberhalb 50° praktisch aufgehoben.

Im Vergleich zur Oxydation des anorganischen Stickstoffs wird nun der Abbau der organischen Substanz durch die Temperatur nur sehr wenig beeinflußt. Es geht dies besonders aus dem in Abb. 1 angeführten „Mittelwert“ hervor, der das Mittel von der prozentualen Abnahme des biochemischen Sauerstoffbedarfs, des Permanganatverbrauches und des organischen Stickstoffs darstellt und ein besserer Maßstab für die Abnahme der organischen Substanz ist als die Werte jeder Bestimmungsmethode für sich allein. Die

Kurven zeigen, daß die Wirkung der Anlagen in dieser Hinsicht zwischen 15° und 30° praktisch gleich ist. Erst bei 8° und vor allem oberhalb 35° ist ein stärkerer Rückgang zu bemerken. Die für die Temperatur von 29° und noch mehr für 35° ermittelten Permanganatwerte sind infolge des hohen Nitritgehaltes des Wassers zu hoch ausgefallen. Für die Berechnung des Mittelwertes wurden deshalb diese Daten korrigiert.

Die Reduktion des organischen Stickstoffs zeigt bei 17° ein deutliches Maximum, während die Kurven für den Permanganatverbrauch und biochemischen Sauerstoffbedarf wesentlich flacher verlaufen. Auch Sierp (3) beobachtete, daß zwischen 6° und 25° die Wirkung der Temperatur in bezug auf die durch den Belebtschlamm erzielte Abnahme des biochemischen Sauerstoffbedarfs ziemlich gering war. Im Gegensatz dazu bestand bei Versuchen, die Hatfield (5) mit Tropfkörpern durchführte, im allgemeinen eine Parallelität zwischen der Temperatur des Abwassers und der erzielten Reduktion der Sauerstoffzehrung. Dieselbe Feststellung machte Rudolfs (6), und zwar waren die beobachteten Unterschiede ziemlich groß, was aber vielleicht teilweise durch besondere Umstände bedingt war. Bei der Bestimmung des biochemischen Sauerstoffbedarfs im Laboratorium beobachteten Greenfield & Elder (7), daß der Abbau bei 14° nur wenig langsamer verlief als bei 20°, bei 6° war die Verzögerung stärker und bei 2° wurde erst nach etwa 55 Tagen der Wert erreicht, der bei 20° schon nach 16 Tagen vorlag. Cooper (8) beobachtete, daß die Zehrung bei 10° weit langsamer verlief als bei 18°, während bei 22 und 37° die Unterschiede ziemlich gering waren. Nach Streeter & Phelps (9) dagegen wird zwischen 0 und 26° bei einer Temperaturerhöhung um 15° die Geschwindigkeit der Zehrung in den ersten Tagen ungefähr verdoppelt, später sind die Unterschiede geringer.

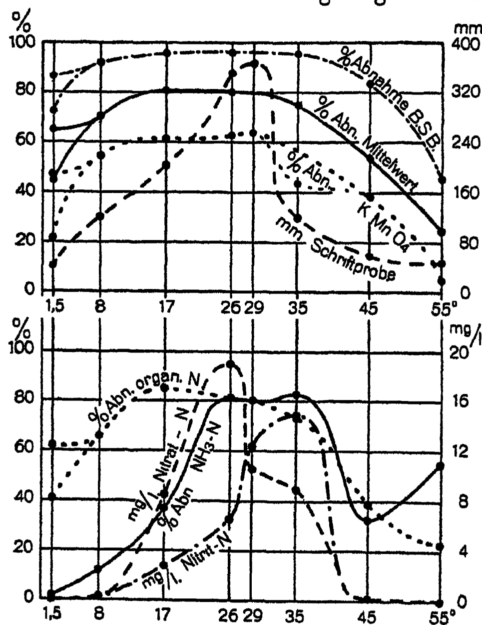


Abb. 1.
Einfluß der Temperatur, chemische Daten.

Der Wassergehalt des Belebtschlammes, der nach 1 Std. Absitzen bestimmt wurde, war bei 1,5° sehr niedrig. Dieser Schlamm enthielt auch verhältnismäßig wenig organische Substanz und hatte eine schwache Adsorptionskraft. Er war ziemlich dicht und feinflockig und setzte sehr schnell ab. Der Schlamm von 45° hatte eine ähnliche Beschaffenheit, während der von mittlerer Temperatur viel lockerer war. Im gleichen Sinne schwankte der Gehalt an organischer Substanz. Der Schlamm von 8° war beim Stehen im Brutschrank (37°) bereits nach 1 Tage gefault, der von 26° nach 5 Tagen, während der von 45° nach 10 Tagen noch frisch war. Dagegen hatte eine vorübergehende Unterbrechung der Be-

lüftung bei der Anlage von 29 und 35° eine viel stärkere Schädigung zur Folge, als dies bei niederer Temperatur der Fall war. Das ist darauf zurückzuführen, daß, wie noch ausgeführt wird, die anaerobe Zersetzung der organischen Substanz im Gegensatz zur aeroben durch Temperaturerhöhung sehr stark beschleunigt wird. Infolgedessen besteht bei dickem Abwasser, das einen hohen Sauerstoffbedarf hat, im Sommer leicht die Gefahr, daß die Fäulnis die Oberhand bekommt, worauf schon Sierp hinweist.

Die Menge des gebildeten Überschußschlammes nahm von 1,5—17° zu, blieb dann bis 29° ungefähr konstant und ging bei 35° wieder stark zurück. Bei 45° wurde überhaupt kein Überschußschlamm mehr gebildet, und bei 55° wurde der eingebrachte Belebtschlamm sogar aufgezehrt. Dieser Schlamm bestand nach 14tägiger Versuchsdauer zu 35,1% seiner Trockensubstanz aus CaO, das zum größten Teil als kohlensaurer Kalk vorlag.

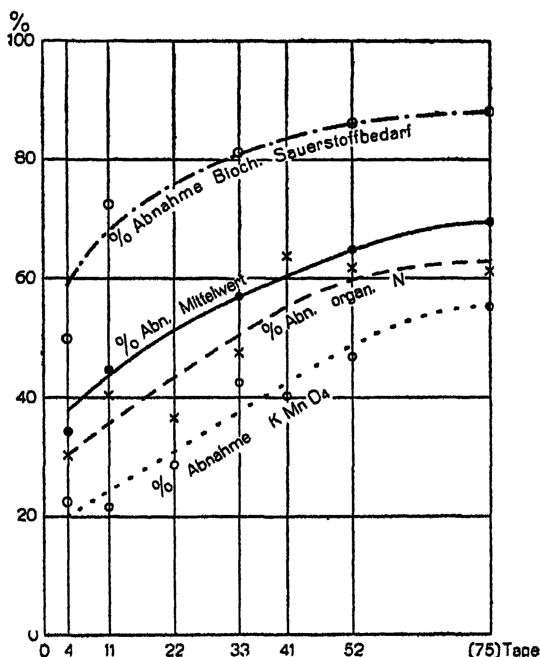


Abb. 2. Allmähliche Einarbeitung bei 1,5° C.

Bei der Temperatur von 1,5° wurde eine ungewöhnlich lange Einarbeitungszeit beobachtet. Es geht dies aus Abb. 2 hervor, in der die einzelnen Punkte der Kurven Durchschnittswerte aus etwa je 10 Betriebstagen darstellen. In Abb. 1 sind für die Temperatur von 1,5° die Daten der 2. (niedere Werte) und 8. (höhere Werte) Woche eingetragen. In der 8. Woche hatten die Werte die der Anlage von 8° bald erreicht, während sie in der 2. Woche um etwa ein Drittel niedriger waren. In der 9. Woche stieg dann während einer Nacht die Wassertemperatur auf 9°. Die Leistung der Anlage ging daraufhin stark zurück. In der folgenden Woche betrug bei 15 stünd. Belüftungsdauer die Abnahme des Mittelwertes nur 57,9%, während sie vordem bei halb so langer Belüftungszeit 64,7% betragen hatte, und es dauerte mehrere Wochen, bis sich die Anlage wieder erholt hatte. Der günstigste Wert, der überhaupt erreicht wurde, betrug 68,3%. Nach den Kurven hätte dies normalerweise in der 11. Betriebswoche der Fall sein müssen, die Kurven müßten dann annähernd horizontal weiter laufen. Als darauf nochmals über Nacht die Temperatur auf 10° gesteigert wurde, ging die Abnahme des Mittelwertes bei 7½ stünd. Belüftungsdauer auf 57,6% zurück. Bei dem Versuch war ausgegangen worden von einem Belebtschlamm, der auf Zimmertemperatur eingestellt gewesen war. Als der Versuch wiederholt wurde mit einem Schlamm, der vordem bei etwa 10° gearbeitet hatte, betrug die Abnahme des Mittelwertes

in der 1. Woche 53,0% in einem Falle, in einem anderen 50,2%, während sie beim 1. Versuch mit Schlamm von Zimmertemperatur noch nicht 40% betragen hatte (Abb. 2). Ein plötzlicher Temperaturabfall hat also je nach seiner Stärke einen mehr oder weniger starken Rückgang in der Leistung einer biologischen Anlage zur Folge, der sich allmählich wieder teilweise ausgleichen kann. Aber auch eine vorübergehende Temperaturerhöhung scheint sich nachteilig auszuwirken, indem die Kältebakterien, die sich herangebildet haben, teilweise durch Bakterien mit einem höheren Temperaturoptimum ersetzt werden.

Die allmähliche Einarbeitung, die bei niederer Temperatur eintreten kann, ist besonders für die natürliche Selbstreinigung in den Flüssen von Bedeutung, da hier die Temperatur lange Zeit sehr niedrig ist. Allerdings verbleiben die Bakterien und das Plankton in der Regel nicht so lange im Fluß, sondern werden größtenteils bald in das Meer abgeschwemmt, so daß eine so weitgehende Anpassung nicht möglich ist. Günstig wird für die Oxydationsvorgänge bei niederer Temperatur auch noch der Umstand sein, daß die Löslichkeit des Sauerstoffs im Wasser erhöht ist und somit ein höherer Sauerstoffgehalt zur Verfügung steht, vorausgesetzt natürlich, daß die Sauerstoffaufnahme nicht durch Eisbildung unterbunden ist. Vielleicht ist umgekehrt der starke Rückgang der Leistung bei hoher Temperatur wenigstens zu einem kleinen Teil eine Folge des niedrigen Sauerstoffgehaltes. So wird nach Meyerhof (10) die Nitratbildung schon bei einem Sauerstoff-Partialdruck von 10% merklich gehemmt.

Da die Anlage von 55° sehr schlecht arbeitete und der eingebrachte Belebtschlamm nach 14 tägiger Betriebsdauer größtenteils aufgezehrt war, wurde ein kleiner Tauchkörper aus Latten eingebaut, um so die Bildung eines biologischen Rasens zu ermöglichen. Doch auch dadurch trat keine Besserung ein. Selbst bei 15 stünd. Belüftungsdauer war der Permanganatverbrauch nur um 36% reduziert. Ein aerober biologischer Abbau bei höherer Temperatur entsprechend der thermophilen Schlammfaulung ist also bei häuslichem Abwasser mit den bei dem Belebtschlammverfahren angewandten Belüftungsmethoden nicht durchführbar. Nun sind aber z. B. thermophile aerobe Zellulose-Zersetzer bekannt (11) und Stalldünger kann auch auf aerobem Wege bei hoher Temperatur zersetzt werden, wie schon Dehérain (12) nachgewiesen hat, und zwar verläuft diese Zersetzung sehr lebhaft. Dieser Umstand wird bei der Heißvergärung des Düngers nach Krantz (13) ausgenutzt. Mit solchem Heißmist[1]) wurde die bei 55° betriebene Anlage wiederholt beimpft, es konnte aber auch dadurch die Leistung nicht gesteigert werden. Doch erscheint es nicht ausgeschlossen, daß bei manchen industriellen Abwässern, wenn sie intensiv belüftet werden, eine aerobe thermophile Reinigung möglich ist, zumal nach einem neuen amerikanischen Patent Klärschlamm auf aerobem Wege mit Hilfe thermophiler Bakterien abgebaut werden kann (14).

Aus dem bei höherer Temperatur eintretenden starken Rückgang

---

[1]) Er war uns in einem Falle von dem Institut für Bodenkunde der Universität Leipzig zur Verfügung gestellt worden, im anderen Falle stammte er von einem Heißvergärungsversuch von Rechengut.

der Gesamtleistung geht hervor, daß bei der biologischen Abwasserreinigung die rein chemische Oxydation gegenüber dem biologisch-chemischen Abbau unbedeutend ist, da sonst die Leistung mit steigender Temperatur weiter zunehmen müßte.

Die Versuche zeigen, daß die van 'tHoffsche Regel auf den aeroben Abbau der organischen Substanz von häuslichem Abwasser im allgemeinen nicht angewandt werden kann. Eine Berechnung des Einflusses der Temperatur mit Hilfe der auf diese Regel zurückgehenden Formen ist also nicht möglich, auch nicht innerhalb des Temperaturbereiches, der unter natürlichen Verhältnissen nur in Frage kommt und innerhalb dessen diese Regel bei einfacheren biologischen Vorgängen, wie die Untersuchungen von Kanitz, Przibram, Crozier, Loeb (15) u. a. gezeigt haben, gilt. Vielmehr wird bei diesem komplizierten Prozeß die Wirkung der Temperatur durch andere Einflüsse, auf die z. T. noch näher eingegangen wird, mehr oder weniger überdeckt. Dagegen verläuft die anaerobe Zersetzung der organischen Substanz, also die Schlammfaulung und die Gasbildung innerhalb 6—30° nach der van 'tHoffschen Regel (Sierp, Fair & Moore [16]). Bei weiterem Temperaturanstieg bleibt die Umsetzungsgeschwindigkeit bis etwa 42° ungefähr konstant, vorausgesetzt, daß immer auf die betreffende Temperatur eingestellter Impfschlamm in genügender Menge vorhanden ist, sonst tritt ein kleiner Rückgang ein (Heukelekian [17]). Von 42—55° nimmt die Zersetzungsgeschwindigkeit wieder nach der van 'tHoffschen Regel zu, erreicht hier ihr Optimum, oberhalb 60° geht die Leistung wieder stark zurück. Bei 55° verläuft der Faulprozeß etwa dreimal so schnell wie bei 30° und etwa zehnmal so schnell wie bei 10°.

Ergebnisse in biologischer Hinsicht.

Die Lebewesen des Belebtschlammes der einzelnen Anlagen wurden ein- bis zweimal wöchentlich nach Art und Zahl bestimmt. Die Zählungen wurden wie bei den früheren Versuchen in einer Zählkammer von 50 cmm Inhalt durchgeführt. Da der Belebtschlamm, abgesehen von den extremen Temperaturen, sehr locker war, ließen sich die Ciliaten und Metazoen auf diese Weise ohne Schwierigkeiten auszählen. Sphaerotilus, Zoogloeen, kleine Mastigophoren (vorwiegend 10—15 μ lang) und Amöben wurden der Menge nach geschätzt und zwar wurde

nicht vorhanden	= 0
vereinzelt (bei kleinen Mastigophoren bis etwa 10 000 im ccm)	= 1
häufig (bis etwa 60 000 im ccm)	= 2
sehr häufig (bis etwa 160 000 im ccm)	= 3
stark überwiegend (über 160 000 im ccm)	= 4

gesetzt; daraus sind dann die in Tab. 2 für diese Lebewesen eingeführten Durchschnittswerte errechnet. Die übrigen Daten in dieser Tabelle beziehen sich auf 1 ccm Wasser-Belebtschlammgemisch mit einem Schlammgehalt von 15% nach 1 Std. Absitzen bei den Anlagen von 1,5 und 45° und von 20—25% bei den übrigen Anlagen. Die Bildung von Wand- und Bodenschlamm, wie sie Hamburg-Eisenberg (18) empfiehlt, wurde absichtlich vermieden, da derartiger Schlamm bei dem angewandten Ab-

Tab. 2. Einfluß der Temperatur,

Belüftungsdauer in Std.	Mittlere Temper. °	Versuchsdauer (ohne Einarbeitungszeit)	Zoogloeen	Sphaerotilus	Kleine Mastigophoren	Rhicopoden		Heterotrichen	Holotrichen	
						Amoeben	Arcellen		Kleine	Große
7½	1,5	29. 11. 33—9. 1. 34	2,4	1,0	3,2	0,9	0	0	2	2
	8	15. 11. 32—28. 2. 33	1,4	2,4	1,3	0,5	0	0	95	4
	17	1. 11. 32—28. 2. 33	1,5	3,2	1,2	0,8	0	0	273	125
	26	18. 1. 33—28. 2. 33	0,6	3,0	1,0	0,7	0	0	240	77
	29	1. 11. 32—19. 12. 32	0,7	3,2	0,8	0,7	(20)	0	83	77
	35	18. 1. 32—28. 2. 33	0,9	2,5	1,0	0,4	0	0	2390	754
	45	8.-28. 11. 32 und 31. 3.—3. 5. 33	0,0	(0,3)	0,0	(0,4)	0	0	(15 000 ganz kleine)	0
	55	6. 5. 33—28. 7. 33	0,0	0,0	0,0	(0,5)	0	0	0	0

wasser und der ziemlich starken Belastung sehr viel Sphaerotilus enthält und infolgedessen von unten her, wo er festsitzt und die Luft wenig Zutritt hat, trotz guter Belüftung leicht fault.

In Tab. 3 sind die beobachteten Arten zusammengestellt, und zwar ist prozentual angegeben, bei wieviel von den vorgenommenen Bestimmungen die einzelnen Arten angetroffen wurden. Für jede Bestimmung wurden 2 Deckglaspräparate durchgemustert, so daß die stärker vertretenen Arten fast immer erfaßt wurden.

Der Schlamm von 1,5° enthielt nur sehr wenig Ciliaten, hatte dagegen als einzige von der ganzen Versuchsreihe einen sehr hohen Gehalt an kleinen Mastigophoren, die sich allerdings erst nach 3 Wochen Versuchsdauer in stärkerem Maße entwickelten. Bakterienzoogloeen, die auch verhältnismäßig stark vertreten waren, bestanden aus großen runden „Knollen", während sie bei höheren Temperaturen eine längliche, verzweigte Form hatten. Sphaerotilus war bei 1,5° nur sehr wenig vorhanden, er trat am stärksten bei mittlerer Temperatur auf; dieser Schlamm war dementsprechend auch am lockersten. Schmiedt (19) dagegen berichtet, daß bei seinen Versuchen der Sphaerotilusgehalt durch Einblasen von kalter Preßluft zunahm und der Schlamm sehr locker wurde. Der Schlamm von 8° wies den höchsten Gehalt an Ciliaten auf, mit steigender Temperatur ging dann im allgemeinen die Zahl der Individuen zurück. Auch Schiller (20) beobachtete, daß kaltes Wasser (11—12°) unter seinen Versuchsbedingungen durchschnittlich produktiver war als warmes. Es ist dies wohl eine Folge der durch die niedrige Temperatur hervorgerufenen Herabsetzung der gesamten Lebenstätigkeit, so daß von der gleichen Nahrungsmenge eine größere Zahl von Individuen leben kann.

Zahl der Individuen im Belebtschlamm.

Hypotrichen		Peritrichen			Suctorien	Rotatorien	Nematoden	Summe der Ciliaten
Kleine	Große	Opercularien	Vorticellen	Epistylis				
6	0	314	12	0	0	4	6	386
2173	392	2414	1405	0	1	(30)	7	6510
2234	358	1534	848	0	1	42	20	5370
1086	206	666	1180	(34)	9	47	89	3500
334	56	0	1600	4067	13	1076	66	(6230)
0	172	0	(115)	0	(50)	0	0	3480
0	0	0	0	0	0	0	0	—
0	0	0	0	0	0	0	0	—

O p e r c u l a r i a b e r b. war die einzige Ciliate, die bei 1,5° noch in nennenswerter Zahl vorkam. Bei 8° zeigte sie ein deutliches Maximum und bei 29° war sie schon wieder ganz verschwunden. Ähnlich verhielten sich die kleinen H y p o t r i c h e n (vorwiegend A s p i d i s c a c o s t.). H o l o t r i c h e n traten dagegen erst bei 35° in stärkerem Maße auf. Es handelte sich hauptsächlich um kleine Holotrichen, sowie um P a r a m a e c i u m c a u d a t u m. Dieses scheint verhältnismäßig unempfindlich gegen höhere Temperaturen zu sein. S z a l o n n i e w i c z (21) konnte es durch stufenweise Anpassung noch an 43° gewöhnen. Außerdem wurden bei 35° noch S t y l o n i c h i a H i s t r i o, V o r t i c e l l a a l b a und a p e r t a sowie A m ö b e n beobachtet. Die beiden letzten Arten entwickelten sich erst nach 5 Wochen Versuchsdauer, es war also offenbar eine Gewöhnung an die hohe Temperatur eingetreten. E p i s t y l i s trat bei 29° in großer Zahl auf. R o t a t o r i e n wiesen ebenfalls bei dieser Temperatur ein starkes Maximum auf und waren bei 35° praktisch vollkommen wieder verschwunden. Auch N e m a t o d e n und S u c t o r i e n bevorzugten mittlere Temperatur.

D i e A r t e n z a h l w a r a m h ö c h s t e n b e i 26—29°, bei welcher Temperatur die Individuenzahl schon wieder zurückgegangen war. Bei 35° war die Artenzahl bereits stark vermindert, und bei langsamer Steigerung der Temperatur trat ein weiterer Rückgang ein. Bis zu etwa 44° wurden außer 5—10 μ großen Amöben nur 15—25 μ große Holotrichen, wahrscheinlich aus der Familie A m p h i l e p t u s, diese aber zeitweise in sehr großer Zahl (bis zu 70 000 im ccm) beobachtet. O b e r h a l b 44° w a r e n n u r n o c h v e r e i n z e l t k l e i n e A m o e b e n v o r h a n d e n. Die beobachteten Unterschiede in der Artenzahl sind einmal eine direkte Folge der Temperatur. Doch werden sie auch indirekt durch sie beeinflußt sein dadurch, daß bei den verschiedenen Temperaturen die Be-

schaffenheit des gereinigten Wassers verschieden war. Jedenfalls konnten wir bei noch nicht abgeschlossenen Versuchen über den Einfluß der Belastung und Belüftungsstärke auf die Lebewelt des Belebtschlammes beobachten, daß guter Belebtschlamm fast immer mehr Arten enthielt als stark belasteter.

Tabelle 3. Einfluß der Temperatur, im Belebtschlamm beobachtete Arten.

Mittlere Temperatur	1,5°	8°	17°	26/29°	35°	45°	55°
Zahl der Bestimmungen	10	13	17	16	13	16	9
Zoogloeen	100	100	94	75	77		
Sphaerotilus	100	100	100	100	100	(25)	
Kleine Mastigophoren	100	100	94	88	100		
Amoeba proteus			6	25	(15)[1])		
Amoeba verrucosa, radiosa		31	47	19	(15)[1])		
Dactylosphaerium		24	23	13			
Hyalodiscus	80	15	6	25	(23)[1])		
Arcella vulgaris				13			
Ganz kleine Amoeben						37	22
Peranema				6			
Astrosiga			35	13	8		
Amphimonas			18		8		
Euglena		8					
Prorodon			35	6	23		
Lionotus spec.		62	94	50	39		
Lionotus fasciola			24				
Lionotus anser			6				
Chilodon cucul.			23	6			
Chiledon unc.	10		12	32	62		
Dysteria			6	44			
Didinium			18	13			
Spathidium			29	38			
Amphileptus (?)						68	
Paramaecium (caudat., aurel.)		24	47	32	92		
Balantiophorus				25	77		
Cinetochilum				50			
Glaucoma	10						
Strombidium				6			
Aspidisca cost.	20	77	82	88			
Euplotes patella		15	18				
Euplotes charon		31	35	13			
Stylonichia		62	88	88	77		
Oxytricha			6	13			
Vorticella	30	85	82	88	(31)[1])		
Opercularia barb.	50	92	88	19			
Epistylis			6	63			
Podophrya		8	6	44			
Tokophrya				25	15		
Nematoden	40	31	65	94	8	6	
Rotatorien (Rotifer, Hydatina, Callidina, Philodina, Cathypna)	30	8	23	81	8		
Oligochaeten				13			
Zahl der beobachteten Arten insgesamt	11	18	30	32	14 (18)[1])	4	1
Zahl der beobachteten Arten im Durchschnitt je Bestimmung	5,7	8,8	12,2	12,7	(7,8)[1])	1,5	

[1]) Erst nach 5 Wochen Versuchsdauer.

Tab. 4. Einfluß der Temperatur, Keimzahlen des biologisch gereinigten Wassers.

Temperatur	1,5°	8°	17°	26°	35°	45°	55°
Gelatine, Zimmertemper.	(2 120 000)	1 350 000	610 000	656 000	800 000	298 000	92 000
Agar, Zimmertemper.	2 710 000	253 000	147 000	86 000	192 000	193 000	69 000
Agar, 37°	693 000	72 000	81 000	74 000	190 000	(1 490 000)	(580 000)

Die Keimzahlen, die vom gereinigten Wasser bei verschiedenen Bebrütungstemperaturen erhalten wurden, sind aus Tab. 4 zu ersehen. Die höchsten Werte traten bei 1,5° auf, und zwar war bei dieser Temperatur die Keimzahl, bei Zimmertemperatur bebrütet, wesentlich höher als bei einer Bebrütungstemperatur von 37°. Im Eisschrank bei etwa 2° wurden Werte gefunden, die im Mittel nur um etwa 10% niedriger lagen als bei Zimmertemperatur, doch war das Wachstum stark verzögert. Dagegen entwickelten sich die Keime bei 6° annähernd ebenso schnell wie bei Zimmertemperatur. Es handelt sich also in der Hauptsache um echte Kältebakterien, die bei 0° noch gut wachsen und ihr Maximum bei etwa 35° haben. Fast ausschließlich waren es kurze, bewegliche Stäbchen, die streng aerob wuchsen, auf Agar weiße, ziemlich runde Kolonien bildeten, Zucker (Glukose, Maltose, Laktose)[1]) nicht vergärten, kein Gas bildeten[1]) und Milch nicht koagulierten[1]). Gelatine wurde in den meisten Fällen, aber nicht immer verflüssigt. Zuweilen trat schwache Fluoreszenz auf. Sie ähneln also Bact. fluorescens liquefaciens und non liquefaciens sowie Bact. herbicola.

Mit zunehmender Versuchstemperatur gingen die Keimzahlen des gereinigten Wassers zunächst zurück, bei 35° stiegen sie wieder etwas, und zwar nahmen die bei einer Bebrütungstemperatur von 37° erhaltenen Werte im Verhältnis besonders zu. Bei 45 und 55° wurden sehr hohe Durchschnittswerte der bei 37° wachsenden Keime gefunden, die Zahlen waren aber im einzelnen sehr schwankend. Es ist dies wohl dadurch zu erklären, daß diese Bakterien sich im Wasser vermehrt hatten und zusammengeballt waren. Dagegen waren die Werte der bei Zimmertemperatur wachsenden Keime viel gleichmäßiger und niedriger; diese hatten sich also offenbar nicht im Wasser vermehrt. Einige Male wurde auch zur Bestimmung der Keimzahl des Ablaufes von der Anlage mit 55° bei dieser Temperatur bebrütet. Es ergaben sich dabei Werte, die im Mittel um etwa zwei Drittel niedriger lagen als die, welche gleichzeitig bei 37° erhalten wurden; diese waren aber auch in diesen Fällen verhältnismäßig sehr niedrig. Die Optimaltemperatur der meisten dieser Bakterien lag also unter 55°.

Es geht aus den Tabellen hervor, daß jeweils die Bakterien im Wasser überwiegen, die bei der betreffenden Temperatur oder in der Nähe davon ihr Optimum haben. In noch stärkerem Maße wird das bei den Bakterien des Belebtschlammes der Fall sein, da diese länger der betreffenden Temperatur ausgesetzt sind. Für den Abbau der organischen Substanz des häuslichen Ab-

[1]) Diese Angabe verdanke ich Herrn Dr. H. Glathe, Leipzig.

wassers, der durch eine große Zahl von Bakterienarten erfolgen kann, finden sich offenbar innerhalb eines weiten Temperaturbereiches wirksame Bakterien, worauf der geringe Einfluß der Temperatur auf diesen Vorgang zurückzuführen sein wird. Auch Löhnis (22) weist wiederholt darauf hin, daß die Temperatur auf bakteriologische Umsetzungen bei Anwendung von Reinkulturen einen viel größeren Einfluß hat, als dies in der freien Natur bei Gegenwart eines Bakteriengemisches der Fall ist. Wenn Greenfield (7) und insbesondere Streeter and Phelps (9) bei der laboratoriumsmäßigen Bestimmung des biochemischen Sauerstoffbedarfs einen starken Einfluß der Temperatur feststellten, so ist das wohl, wie schon Greenfield vermutet, darauf zurückzuführen, daß nicht genügend auf die betreffende Temperatur eingestellte Bakterien vorhanden waren. Im Gegensatz zur organischen Substanz wird der anorganische Stickstoff nur durch verhältnismäßig wenige Bakterienarten oxydiert; deshalb gilt hier die van 't Hoffsche Regel. Es ist auch anzunehmen, daß der Einfluß der Temperatur auf den Abbau bestimmter organischer Substanzen aus Industrieabwässern, wie z. B. Phenole, auf die auch nur wenig Bakterienarten eingestellt sind, sehr groß ist. Dafür spricht, daß in Flüssen, denen regelmäßig phenolhaltige Abwässer zugehen, bei Eintritt von strenger Kälte ein starkes Anwachsen des Phenolgehaltes beobachtet werden kann.

Die Einstellung des Belebtschlammes auf die verschiedenen Temperaturen wird noch dadurch begünstigt, daß eine gewisse Anpassungsfähigkeit der einzelnen Bakterienarten an die Temperatur besteht. So konnte Dieudonné (23) Bact. fluor. putidum durch langsame Temperatursteigerung von 37° an 41,5° gewöhnen. Mischustin (24) ermittelte eine stärkere Anpassungsfähigkeit der nordischen Mikroflora zu einer Entwicklung bei niedriger Temperatur im Vergleich mit der südlichen und umgekehrt der südlichen an höhere Temperaturen. Und Gubitz (25) konnte feststellen, daß bei Kältebakterien sich die Optimaltemperatur noch um einige Grade erniedrigen kann, wenn man typische Kältepilze etwa 12 Generationen lang bei 0° hält. Diese Anpassungsfähigkeit wird besonders für die Einarbeitung der Anlage von 1,5° von Bedeutung gewesen sein. Kältebakterien sind gerade im Wasser zahlreich vertreten, wie schon Forster (26) gezeigt hat. Von 29 Stämmen, die Gubitz (25) aus Wasser isolierte, wuchsen 22 noch gut bei niederer Temperatur. Im ganzen konnte er 186 derartige Stämme aus den verschiedensten Substraten isolieren. 48% davon wuchsen bei 37° nur noch ganz schwach oder überhaupt nicht. Für 12 Stämme wurde eine ursprüngliche Optimaltemperatur von 15—25° ermittelt, doch wird es für möglich gehalten, daß diese schon bei 12° beginnt. Rubentschik (27) fand, daß das Temperaturoptimum von Bakterien, die auf Rieselfeldern noch bei 0 bis — 3° wirksam waren, nicht unter 20° lag. Die Geschwindigkeit der durch diese Bakterien durchgeführten Abbauprozesse (Fäulnis, Harnstoffzersetzung, Denitrifikation, Nitritbildung) war bei dieser Temperatur geringer, als der van 't Hoffschen Regel entspricht. Für 5 bei 0° noch gut wachsende Bakterienstämme, die M. Müller (28) isolierte, ergaben sich zwischen 10 und 25° für die kürzeste Generationsdauer Temperaturquotienten von 2—3, die Teilungsgeschwindigkeit wurde also bei einer Temperaturerhöhung von 15 auf 25° noch mehr als verdoppelt. Bei 0° bildeten sie in Reinkulturen noch deutlich aber schwach Kohlensäure und Ammoniak aus organischer Substanz. P. E. Brown und Smith (29) beobachteten dagegen in ge-

frorenem Boden eine größere Ammoniakbildungkraft als in ungefrorenem, auch das Denitrifikations- und Stickstoff-Bindungsvermögen war bei Frost noch beträchtlich, das Nitrifikationsvermögen dagegen schwach. Auch Schönbrunn (30) stellte im Boden noch bei 0° eine mit der Zeit kräftig einsetzende Ammoniakbildung fest.

Für die Protozoen wird die Teilungsgeschwindigkeit (Bütschli, Woodruff und Baitsell und Michelson [31]) und die Pulsationsfrequenz (Kanitz, Khainsky, Cole [32]) bei Temperatursteigerung bis etwa 25° nach der van 't Hoffschen Regel beschleunigt. Für Glaucoma und Chilodon cuc. beginnt das Optimum bereits bei etwa 20°. Nach Glaser (33) wird die Geschwindigkeit der Vorwärtsbewegung von Paramaecium durch die Gleichung von Arrhenius:

$$\frac{K_1}{K_0} = e^{\frac{\mu}{2}\left(\frac{T_1 - T_0}{T_1 - T_0}\right)}$$

wiedergegeben, wobei μ von 6—15° gleich 16 000, oberhalb 15° gleich 8000 ist. In all diesen Fällen ist eine Anpassung an die Temperatur, die auch hier, wie bereits erwähnt, erfolgen kann, nicht berücksichtigt.

Bei den beschriebenen Belebtschlammversuchen wird die bei niederer Temperatur eingetretene Hemmung der Lebenstätigkeit der Protozoen noch durch eine Erhöhung der Individuenzahl teilweise ausgeglichen. So wurde bei der Anlage von 1,5° beobachtet, daß die Gesamtkeimzahl des Ablaufes ungefähr in dem Maße abnahm, wie sich die kleinen Mastigophoren im Schlamm entwickelten.

II. Einfluß der Jahreszeit.

Über den Einfluß der Jahreszeit waren Untersuchungen an folgenden Anlagen durchgeführt worden:

1. Belebtschlamm-Versuchsanlage I an der Leipziger Hauptkläranlage. Diese wie die folgende Anlage sind an anderer Stelle (34) ausführlich beschrieben. Sie besteht aus einem 80 cbm fassenden Belüftungsbecken mit Filterplatten und Rührwerk, dem ein 25 cbm großes Becken vorgeschaltet war, das zeitweise als Tauchkörper, zeitweise als 1. Belebtschlammstufe mit dem Überschußschlamm der nachgeschalteten Schlammbelebung betrieben wurde.

2. Belebtschlamm-Versuchsanlage II an der Leipziger Hauptkläranlage, bestehend aus einem 190 cbm großen Belüftungsbecken mit Paddelrädern und Filterplatten, mit dem zeitweise ein 100 cbm großes Schlamm-Regenerationsbecken mit Filterplatten und Rührwerk verbunden war. In den beiden Versuchsanlagen zusammen wurden täglich 700 bis 1100 cbm Abwasser behandelt. Die Belüftungsdauer betrug i. M. etwa 9 Std., war aber im einzelnen sehr schwankend.

3. Belebtschlammanlage in Leipzig-Wahren. Diese bestand zu der Zeit, als die Untersuchungen durchgeführt wurden, aus 3 je 150 cbm großen Belüftungsbecken mit Filterplatten, denen 2 ebenso große Tauchkörperbecken vorgeschaltet waren. Die Anlage hat einen Trockenwetterzulauf von 1800 bis 2400 cbm pro Tag.

4. Tropfkörperanlage in Leipzig-Leutzsch, die 6 Tropfkörper von je 900 cbm Inhalt hat. Das Brockenmaterial ist in der Hauptsache Kesselschlacke, z. T. auch Koks. Bei Trockenwetter werden i. M. 2200 cbm pro Tag Abwasser gereinigt. Die Anlage ist a. a. O. (35) näher beschrieben.

5. Laboratoriums-Versuchsanlage nach dem Belebtschlammverfahren. Diese war von derselben Art wie die zu den Versuchen des ersten Teiles dieser Arbeit benutzten. Sie wurde immer bei Zimmertemperatur betrieben, war also nur einer geringen jahreszeitlichen Temperaturschwankung unterworfen. Doch wurde

die Anlage im Winter zeitweise etwas starker abgekuhlt, da der Raum, in dem sie aufgestellt war, Sonntags nur schwach geheizt wurde Die Beluftungsdauer betrug im ersten Jahre 9 bis 10 Std., dann 7½ Std.

Die Beobachtungen wurden durchgeführt vom Herbst 1930 bis Frühjahr 1933 bei den Belebtschlammanlagen und vom Herbst 1932 bis Frühjahr 1934 bei den Leutzscher Tropfkörpern.

Die Anlagen wurden im allgemeinen monatlich 4—6 mal kontrolliert. Beim Zu- und Ablauf handelt es sich natürlich um zusammengehöriges Abwasser, und zwar sind es, außer bei Leutzsch und der Laboratoriumsanlage, Durchschnittsproben, die immer zu derselben Tageszeit während mehrerer Stunden gesammelt wurden. Über die Zusammensetzung des Rohwassers zu den Anlagen 1, 2 und 5 ist a. a. O. (36) ausführlich berichtet; das von der Wahrener und Leutzscher Anlage ist von ähnlicher Beschaffenheit.

Bei den großen Versuchsanlagen traten während der Beobachtungszeit einige Betriebsstörungen auf. Es konnten daher bei der Zusammenstellung der Ergebnisse (Tab. 5—7) die Daten, die mit größter Wahrscheinlichkeit durch derartige Umstände beeinflußt waren, nicht mit verwandt werden. Zuweilen war es auch aus Zeitmangel nicht möglich, Untersuchungen in ausreichender Zahl vorzunehmen. Die Durchschnittswerte, die nicht genügend sicher erschienen oder die sich aus untereinander sehr verschiedenen Einzelwerten zusammensetzen, sind deshalb in den Tabellen eingeklammert.

Die Auswertung der Ergebnisse wird noch dadurch erschwert, daß die Konzentration des Rohwassers einer regelmäßigen jahreszeitlichen Schwankung unterworfen ist. Der Permanganatverbrauch war im Mittel von 380 Bestimmungen im Sommer um 20% niedriger als im Winter zu denselben Probeentnahmezeiten. Der Gehalt an Ammoniakstickstoff weist eine ähnliche Schwankung auf. Zurückzuführen ist dieser Wechsel in der Konzentration auf den höheren Reinwasserverbrauch in der warmen Jahreszeit. Dieser war im Sommer (Mai bis September) der betreffenden Jahre im Mittel um 13,5% höher als im Winter (Oktober bis April). Der Abwasseranfall an der Hauptkläranlage an je 40 Wochentagen bei Trockenwetter bestimmt — wurde in den Monaten Mai bis September um 19% höher gefunden, als vom November bis März. Nach Eigenbrodt (37) war 1920 bei 124 deutschen Städten der größte Tagesverbrauch von Reinwasser, der in die heißesten Monate fällt, im Mittel um ein Drittel höher als der mittlere, so daß allgemein mit einer jahreszeitlichen Schwankung in der Konzentration des Abwassers zu rechnen ist. So berichtet Demine (38) bei dem Abwasser der Stadt Moskau von einem ähnlichen Wechsel der Menge und Konzentration, wie er hier beobachtet wurde. Die absolute Menge der anfallenden Schmutzstoffe bleibt natürlich annähernd dieselbe, so daß eine biologische Betriebsanlage dadurch nicht nennenswert beeinflußt wird. Wohl aber könnte diese Schwankung auf die Wirksamkeit der Versuchsanlagen und der Laboratoriumsanlage einen Einfluß gehabt haben, da deren Mengenbelastung im Sommer und Winter nicht so verschieden bzw. ganz gleich war.

Die monatlichen Durchschnittswerte der Wassertemperaturen der einzelnen Anlagen (Mittel aus Messungen, die 2 Jahre lang zweimal täglich durchgeführt wurden) sind aus Tab. 8 zu ersehen. Die Jahresdurchschnittstemperaturen des Abwassers von 24 Kläranlagen verschiedener Länder gibt Imhoff (39) an. Plötzliche Schwankungen der Rohwasser-

temperaturen kommen bei großen Anlagen in der Regel nicht vor. Nur bei eintretendem Tauwetter oder kaltem Regen kann, wenn für das Kanalnetz Gemischtsystem besteht, die Temperatur schnell um einige Grad absinken. Als niedrigste Temperatur des Rohwassers wurde in solchem Fall an der Leipziger Hauptkläranlage 6° gemessen.

Tab. 8. Temperatur des Abwassers.

Monat	Laboratoriumsanlage	Versuchsanlage 1		Wahren	Leutzsch	
		Zulauf	Ablauf	Zulauf	Zulauf	Ablauf
Januar	16,3	10,3	9,0	9,5	9,0	5,7
Februar	16,3	9,9	8,7	9,0	8,3	5,0
März	16,4	10,3	9,2	10,4	8,9	7,0
April	16,9	12,0	11,8	11,5	10,2	9,7
Mai	17,8	15,7	16,1	13,5	13,2	14,9
Juni	20,6	18,7	18,9	16,3	15,2	16,4
Juli	20,3	19,2	19,8	17,5	16,9	18,2
August	19,6	19,2	19,8	18,8	17,9	18,7
September	17,5	17,8	18,0	17,5	16,7	16,0
Oktober	16,8	15,6	15,5	14,5	14,3	12,1
November	16,3	14,0	13,0	12,5	12,4	8,9
Dezember	16,2	11,8	10,2	10,3	10,5	6,4
Jahresdurchschnitt	17,6	14,5	14,2	13,3	12,8	11,6

Ergebnisse in chemischer Hinsicht.

Nach Tab. 8 schwankt die Temperatur des Abwassers der beobachteten Betriebsanlagen während des Jahres im Monatsmittel etwa zwischen 8 und 20°. Aus Abb. 1 läßt sich errechnen, daß unter den dort herrschenden Versuchsbedingungen eine Belebtschlammanlage bei 8° im Vergleich zu dem, was bei 20° zu erwarten ist, in bezug auf

Abnahme des Permanganatverbrauches etwa 88%
Abnahme des biochemischen Sauerstoffbedarfes etwa . . 96%
Abnahme des organischen Stickstoffs etwa 78%
Abnahme des Mittelwertes etwa 87%
Abnahme des Ammoniakstickstoffs etwa 24%
Nitritbildung etwa 5%
Nitratbildung etwa 2%
Schriftprobe etwa 47%

leistet. Danach kann im allgemeinen die Wirkung der jahreszeitlichen Temperaturschwankung auf den Abbau der organischen Substanz nur gering sein. Ein stärkerer Einfluß müßte sich dagegen bei der Nitrifikation und der Klarheit des Wassers (Schriftprobe) zeigen.

Trotzdem die Bedingungen bei den Anlagen, an denen die jahreszeitlichen Beobachtungen gemacht wurden, nicht immer genau gleich waren, sind doch, wenn man die Ergebnisse nach Jahreszeiten ordnet (Tab. 5), bei allen dieselben Schwankungen zu bemerken, die im großen ganzen im erwarteten Sinne liegen und mithin im wesentlichen als eine Wirkung der Temperatur aufzufassen sind. So haben alle Anlagen für die Schriftprobe und Sichttiefe des Wassers im Sommer einen bedeutend günstigeren Wert als im Winter. Bei der Laboratoriumsanlage sind die Unterschiede entsprechend der gleichmäßigeren Temperatur kleiner.

Tab. 5. Einfluß der Jahres-

Jahreszeit	Anlage	Durchschnittstemperatur °	Belebtschlamm: % Wasser (1 Std. Absitzen)	Belebtschlamm: % Organ. Substanz bez. auf Trockensubstanz: Abdampfschale	Belebtschlamm: % Organ. Substanz bez. auf Trockensubstanz: Goochtiegel
Fruhjahr (Marz bis April)	Versuchsanlage I	10,8	99,28	68,9	(80,8)
	Versuchsanlage II	10,8	99,12	71,2	—
	Wahren	10,4	99,28	(77,6)	(78,2)
	Leutzsch	9,0	—	—	—
	Durchschn. (außer Leutzsch)	10,7	99,23	(72,6)	(79,5)
Sommer (Mai bis September)	Versuchsanlage I	18,3	99,31	69,3	73,8
	Versuchsanlage II	18,4	99,42	65,7	70,2
	Wahren	17,0	99,35	71,5	76,9
	Leutzsch	16,4	—	49,3	—
	Durchschn. (außer Leutzsch)	17,9	99,36	68,8	73,6
Herbst (Oktober bis November)	Versuchsanlage I	14,5	99,41	69,2	(71,0)
	Versuchsanlage II	14,5	99,46	68,7	(71,5)
	Wahren	13,2	(99,38)	73,4	(78,4)
	Leutzsch	12,0	—	54,6	—
	Durchschn. (außer Leutzsch)	14,1	99,42	70,4	(73,6)
Winter (Dezember bis Februar)	Versuchsanlage I	10,0	99,39	70,3	78,3
	Versuchsanlage II	9,8	99,31	71,1	74,5
	Wahren	8,8	99,09	76,5	79,2
	Leutzsch	7,5	—	55,3	—
	Durchschn.(außer Leutzsch)	9,5	99,26	72,6	77,3
Frühjahr	Laboratoriumsanlage . . .	16,8	99,64	(62,4)	(72,1)
Sommer	Laboratoriumsanlage . . .	19,7	99,22	66,2	72,3
Herbst	Laboratoriumsanlage . . .	16,3	99,34	67,1	74,2
Winter	Laboratoriumsanlage . . .	16,3	99,48	67,1	74,1

Die Abnahme des Ammoniakstickstoffes ist im Winter etwas verringert. Die Nitrifikation ist bei den großen Versuchsanlagen sowie bei der Wahrener Anlage auch im Sommer sehr schwach. Bei den Tropfkörpern in Leutzsch dagegen ist die Nitratbildung sehr kräftig, so daß auch im Winter, obwohl die Temperatur etwas niedriger ist als in den Belebtschlammanlagen, noch viel Nitrat gebildet wird; doch ist ein deutlicher Rückgang gegenüber dem Sommer zu bemerken. Auch bei dem Tropfkörper in Leipzig-Thekla, von dem keine weiteren Untersuchungsdaten hier angeführt sind, wurden bei einer Wassertemperatur von 6° noch 14 mg/l Nitratstickstoff gefunden. Nun ist zwar die Belastung dieser beiden Tropfkörperanlagen nicht groß. Doch konnten mit einer Laboratoriums-Belebtschlammanlage bei 11° selbst bei 15 stünd. Aufenthaltsdauer trotz guter Belüftung im Mittel nur 6,5 mg/l Nitratstickstoff (Tab. 1) erhalten werden. Es hat danach den Anschein, als ob in Tropfkörpern, vorausgesetzt natürlich, daß sie zweckmäßig angelegt sind, die Bedingungen für die Nitrifikation besonders günstig liegen. Dieselbe Vermutung ist auch von Sierp (40) ausgesprochen worden. Vielleicht ist das auf eine intensivere Berührung des Abwassers mit der Luft zurückzuführen. Bei der Laboratoriums-Belebtschlammanlage

zeit, chemische Daten.

Sichttiefe	Schriftprobe	Permanganatverbrauch			Ammoniak-N		Nitrit-N	Nitrat-N
cm	mm	Zufluß mg/l	Abfluß mg/l	% Abnahme	Zufluß mg/l	Abfluß mg/l	Abfluß mg/l	Abfluß mg/l
60	139	310	115	62,8	58	41	0,0	0,0
61	110	310	119	61,4	(53)	(36)	Spur	0,1
75	94	—	116	—	(60)	46	0,1	0,5
—	118	—	90	—	36	9	0,7	18,0
65	114	310	117	62,1	57	41	Spur	0,2
81	227	256	90	64,9	42	26	0,7	0,4
74	177	256	89	65,2	42	27	Spur	Spur
90	150	—	82	—	51	37	1,6	0,6
—	172	220	78	—	40	4	1,5	33,0
82	185	256	89	65,0	45	30	0,8	0,3
64	(149)	(291)	(97)	(66,7)	(54)	(44)	0,0	0,0
63	(111)	(288)	(102)	(64,5)	(55)	(42)	0,1	Spur
59	112	—	118	—	(63)	(42)	0,5	0,2
—	(145)	—	(78)	—	(40)	(10)	3,8	28,0
62	124	(290)	(100)	(65,6)	(57)	(42)	0,2	0,1
64	119	309	114	63,1	58	48	0,0	0,0
64	119	309	116	62,5	58	45	Spur	Spur
58	89	—	114	—	(72)	(53)	Spur	0,2
—	(108)	286	83	—	44	8	1,4	27,0
62	109	309	115	62,8	63	49	Spur	0,1
—	232	265	98	63,0	46	27	0,9	(3,6)
—	300	206	81	60,2	35	7	2,1	17,2
—	229	214	78	63,5	42	20	1,0	11,5
—	224	262	96	63,6	46	30	1,2	4,9

konnten wir jedenfalls feststellen, daß die Nitrifikation durch die Intensität der Belüftung stark beeinflußt wird. Es wurde deshalb bei den Laboratoriumsversuchen die Luft mittels Rotamesser kontrolliert.

Die Laboratoriumsanlage nun zeigte, trotzdem die jahreszeitlichen Temperaturunterschiede hier gering waren, eine starke Periodizität in der Nitratbildung. Man könnte dies auslegen als einen periodischen Einfluß der Jahreszeit, unabhängig von der Temperatur, als Folge einer Anpassung der Nitratbildner an den seit Jahrmillionen bestehenden Wechsel der Jahreszeiten, wie das Löhnis (4) und Limbach (41) für möglich halten. Doch ist zu berücksichtigen, daß bei dieser Anlage die Temperatur im Winter vorübergehend etwas stärker zurückging und die Belastung im Sommer infolge der geringeren Konzentration des Abwassers etwas schwächer war. Außerdem war bei der Anlage, die bei 26° arbeitete (Tab. 1), die Nitratbildung gut, obwohl dieser Versuch im Winter durchgeführt wurde. Es liegt also keine Notwendigkeit zu der obigen Annahme vor. Vielmehr können die beobachteten jahreszeitlichen Schwankungen in der Nitratbildung erklärt werden durch die Unterschiede in der Temperatur und Konzentration des Abwassers.

Der Gehalt des Belebtschlammes an organischer Substanz war im Sommer etwas niedriger als im Winter, beim Tropfkörperschlamm waren die Unterschiede noch größer. Für den Wassergehalt des Belebtschlammes, der bestimmt wurde, nachdem der Schlamm 1 Std. im senkrecht stehenden Zylinder abgesetzt hatte, wurde bei den Betriebsanlagen keine regelmäßige Schwankung gefunden. Dagegen setzte der Schlamm in den Nachklärbecken während der warmen Monate, besonders im Mai, schlechter ab als im Winter und Frühjahr. Bei der Laboratoriumsanlage war der Schlamm im Winter und Frühjahr im allgemeinen etwas wasserreicher. An der Belebtschlammanlage in Milwaukee (42) wurde im Sommer ein starker Rückgang des Wassergehaltes vom Schlamm beobachtet, wobei sein Gehalt an Fadenpilzen merkwurdigerweise stark zunahm.

Für die Abnahme des Permanganatverbrauches vom gereinigten Wasser bestand im Sommer und Winter praktisch kein Unterschied. Dasselbe gilt für die Reduktion des biochemischen Sauerstoffbedarfs, soweit Bestimmungen darüber durchgeführt wurden. Der aerobe Abbau der gelösten organischen Substanz des Abwassers wird also in unserem gemäßigten Klima durch die Jahreszeit nicht nennenswert beeinflußt. Daraus ist zu folgern, daß die Belastungsmöglichkeit einer Belebtschlammanlage während des ganzen Jahres ziemlich gleich ist. Nur muß man damit rechnen, daß der Ablauf im Winter trüber ist und weniger Nitrat enthält als im Sommer.

Im ganzen sind die beobachteten jahreszeitlichen Schwankungen eher noch etwas geringer, als sich aus den Temperaturdifferenzen ergibt. Wahrscheinlich wirkt der Umstand noch ausgleichend, daß das Rohwasser im Sommer gewöhnlich stärker gefault ist und dadurch der Reinigungsvorgang im Sommer etwas verzögert wird. So berichtet Fries (43) von der Belebtschlammanlage in Essen-Rellinghausen, daß dort im Sommer bei hoher Temperatur sogar ein geringes Nachlassen der Reinigungswirkung festgestellt wurde, während die Leistung in dem strengen Winter 1929, als die Lufttemperatur — 20° betrug, unverändert war; die Wassertemperatur war damals allerdings nicht unter 8° gesunken. In Los Angeles (44) kam es im Sommer, wenn das Abwasser eine mittlere Temperatur von 35° hatte, sogar zu großen Störungen der Belebtschlammanlage, während diese bei Regenwetter und bei niedriger Lufttemperatur zufriedenstellend arbeitete. Abhilfe konnte hier geschaffen werden durch Vorchlorung des Abwassers im Stadtgebiet, wodurch dieses frisch erhalten wurde. Auch an den Belebtschlammanlagen in Erfurt (48) und Cleveland (46) konnte kein schädigender Einfluß der kalten Jahreszeit festgestellt werden. Copeland (47) beobachtete an der Anlage in Milwaukee, daß bei kaltem Wetter der Ammoniakgehalt nicht abnahm und Nitrat nicht in nennenswerter Menge gebildet wurde. Aber die Abnahme der organischen Substanz war so groß, und die niedrige Temperatur des Abwassers ermöglichte eine so große Sauerstoffaufnahme, daß der Abfluß stabil war trotz der Abwesenheit von Nitraten. Lederer (48) berichtet, daß bei der Reinigung von Viehhofabwässern der Abbau der organischen Stickstoffverbindungen im Gegensatz zur Oxydation des Ammoniakstoffstoffs durch die Jahreszeit wenig beeinflußt wurde.

Eine Heizung einer Preßluft-Belebtschlammanlage für häusliches

Abwasser wird also praktisch wenig Nutzen haben. In Milwaukee, wo versuchsweise eine solche eingebaut worden war, wurde sie wieder entfernt, da keine Leistungssteigerung dadurch erzielt werden konnte. Jedoch kann es vielleicht bei schwer zu behandelndem Industrieabwasser, zumal wenn es vorwiegend einen Bestandteil als Verunreinigung enthält, vorteilhaft sein, die biologische Reinigung bei höherer Temperatur, vielleicht sogar thermophil vorzunehmen. Das wird besonders dann in Frage kommen, wenn dieses schon heiß anfällt, wie es z. B. bei Hefefabrik- und Brennereiabwasser der Fall ist. So hat Eddy (49) Gerbereiabwasser bei 22° mit Belebtschlamm gereinigt, indem er die eingeblasene Preßluft erhitzte, weil er festgestellt hatte, daß die Wirkung bei dieser Temperatur besonders gut war. Die Entphenolung von Abwässern mittels Druckluft bei Temperaturen oberhalb 70°, von denen Schulze-Forster und Haase (50) berichten, beruht nicht auf biologischen Vorgängen, sondern auf Polymerisationserscheinungen und auf rein chemischer Oxydation. Etwas größer als bei Preßluftanlagen wird der Einfluß der jahreszeitlichen Temperaturschwankung bei den Anlagen sein, die ausschließlich von der Oberfläche her durch Paddelräder u. dgl. belüftet werden, weil dadurch das Wasser stärker abgekühlt wird, während die Preßluft durch die Kompression erwärmt ist. Noch größer ist natürlich die Wirkung der Temperatur bei Rieselfeldern, zumal bei diesen auch plötzliche Temperaturschwankungen auftreten können.

Ergebnisse in biologischer Hinsicht.

Die biologischen Untersuchungen wurden in derselben Weise durchgeführt wie im ersten Teil. Die Ergebnisse sind aus Tab. 6 und 7 zu ersehen. Von der Tropfkörperanlage wurden weniger Bestimmungen gemacht, so daß die Daten davon hier nicht mit angeführt sind.

An den Daten fällt zunächst auf, daß im ganzen die durch den Wechsel der Jahreszeiten hervorgerufene Periodizität in der Lebewelt des Belebtschlammes entsprechend der gleichmäßigeren Umweltsbedingungen (Nahrung, Temperatur, Sauerstoffgehalt) wesentlich geringer ist, als dies sonst in der freien Natur zu beobachten ist. Diese Konstanz wird noch dadurch begünstigt, daß chlorophyllhaltige Pflanzen, die durch die Jahreszeit besonders stark beeinflußt werden, im Belebtschlamm überhaupt nicht auftreten.

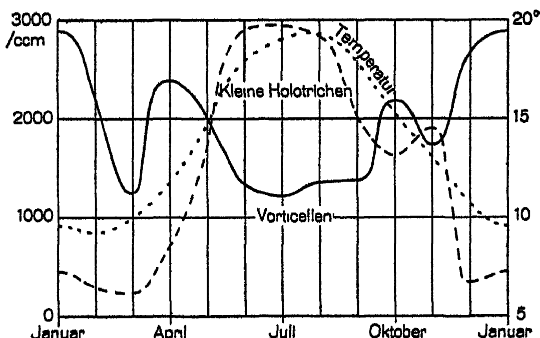


Abb. 3. Einfluß der Jahreszeit auf die Zahl der kleinen Holotrichen und Vorticellen im Belebtschlamm sowie auf die Wassertemperatur.

Der Gehalt des Belebtschlammes an Zoogloeen, Sphaerotilus, kleinen Mastigophoren und Amoeben war während des ganzen Jahres ziemlich gleichmäßig. Auch an der Struktur des Sphae-

Tab. 6. Einfluß der Jahreszeit.

Jahreszeit	Anlage	Zoogloeen	Sphaerotilus	Mastigophoren	Rhizopoden: Amoeben	Rhizopoden: Arcellen	Heterotrichen	Holotrichen: kleine	Holotrichen: große
Frühjahr	Versuchsanlage I .	1,6	2,8	2,2	0,8	0	0	965	107
	Versuchsanlage II .	2,0	3,0	2,7	1,4	0	0	2	198
	Wahren	1,2	2,0	1,6	1,3	0	0	232	0
	Durchschnitt	1,6	2,6	2,2	1,2	0	0	400	102
Sommer	Versuchsanlage I .	2,4	2,8	1,7	1,5	25	25	4230	130
	Versuchsanlage II .	2,3	2,4	1,7	1,4	0	0	1850	6
	Wahren	1,5	1,5	1,5	1,5	0	0	2700	80
	Durchschnitt	2,1	2,2	1,6	1,5	8	8	2930	72
Herbst	Versuchsanlage I .	2,0	2,0	2,3	0,5	0	0	2260	4
	Versuchsanlage II .	1,8	3,4	1,5	1,3	0	0	1030	7
	Wahren	1,8	2,2	1,8	0,8	0	0	2770	150
	Durchschnitt	1,9	2,5	1,9	0,9	0	0	2020	54
Winter	Versuchsanlage I .	1,8	2,8	2,1	1,7	0	0	740	35
	Versuchsanlage II .	1,8	2,9	2,7	1,0	0	0	32	15
	Wahren	1,3	1,6	1,6	1,4	0	0	380	12
	Durchschnitt	1,6	2,4	2,1	1,4	0	0	380	21
Frühjahr	Labor.-Anlage . . .	1,3	3,7	1,3	1,2	0	0	128	116
Sommer	Labor.-Anlage . . .	1,7	3,5	1,3	1,6	140	14	1310	100
Herbst	Labor.-Anlage . . .	2,2	3,3	1,0	1,1	15	11	1520	150
Winter	Labor.-Anlage . . .	2,0	3,4	1,3	1,6	0	0	260	47

rotilus konnten zu den verschiedenen Jahreszeiten keine regelmäßigen Unterschiede festgestellt werden. Eine gleichmäßige Schwankung der Individuenzahl bei allen Anlagen wurde bei den kleinen Holotrichen und außerdem, aber nicht so ausgeprägt, bei den Vorticellen beobachtet. Deren Jahreskurven (Durchschnittswerte von den 3 Betriebsanlagen) sind in Abb. 3 wiedergegeben. Die Holotrichenkurve geht ungefähr parallel mit der Temperaturkurve. Doch trat eine ähnliche, wenn auch schwächere Schwankung bei der gleichmäßiger temperierten Laboratoriumsanlage auf; allerdings war diese während der einzelnen Jahre nicht so regelmäßig. Da nun die Holotrichenzahl im Winter nicht, wie es beim Nitratgehalt der Fall war, durch eine schwache Heizung erhöht werden konnte (Tab. 2), auch nicht, als der Zulauf, um die Sommerverhältnisse möglichst nachzuahmen, mit 20% Reinwasser verdünnt und die Anlage dementsprechend schwächer belastet wurde, so handelt es sich offensichtlich um eine jahreszeitliche Schwankung, die unabhängig von äußeren Faktoren ist.

Bei den Betriebsanlagen nahmen im Winter außer den kleinen Holotrichen auch noch die kleinen Hypotrichen und Opercularien etwas ab. Dafür vermehrten sich zwar die Vorticellen, was aber diesen Ausfall nicht ausgleichen konnte, so daß hier die Gesamtindividuenzahl vom Sommer bis zum Frühjahr eine regelmäßige Abnahme zeigt. Bei der Laboratoriumsanlage dagegen nahmen die kleinen Hypotrichen und Opercularien im Winter zu; infolgedessen war hier

Zahl der Individuen im Belebtschlamm.

Hypotrichen kleine	Hypotrichen große	Peritrichen Opercularien	Peritrichen Vorticellen	Peritrichen Epistylis	Peritrichen Carchesium	Suctorien	Rotatorien	Nematoden	Summe der Ciliaten
1760	361	291	1963	0	83	1	1	14	5530
10	0	243	1317	0	0	0	0	5	1770
400	34	472	2108	3	0	0	0	0	3250
720	132	335	1800	1	28	0	0	6	3520
2060	100	780	1660	240	6	43	3	19	9270
700	53	130	1290	200	28	26	0	7	4280
820	10	1420	1210	240	0	29	36	27	6500
1190	55	780	1390	230	12	33	13	28	6680
970	75	330	1670	28	0	3	2	4	5340
260	170	320	1580	0	0	3	5	4	3370
280	220	200	3330	50	0	0	0	35	7000
500	155	280	2190	26	0	2	2	14	5240
1590	140	370	2470	2	0	3	1	12	5350
70	8	120	2860	12	0	0	0	4	3120
570	0	520	2820	0	0	0	0	0	4300
740	49	340	2720	5	0	1	0	5	4260
2080	192	1085	1240	0	0	4	6	58	4850
1230	190	600	1770	280	4	12	150	140	5510
1660	140	550	1720	50	0	18	24	62	5820
2240	230	1610	1610	70	0	3	17	48	6070

die Gesamtindividuenzahl während des ganzen Jahres ziemlich konstant. *Epistylis*, *Suctorien* und *Metazoen* waren im Winter nur in geringer Zahl, im Sommer dagegen stärker vertreten, was nach Tab. 2 eine *Folge der Temperaturunterschiede* ist.

Der *Schlamm* war in allen Fällen, auch bei der Laboratoriumsanlage, *im Sommer artenreicher als im Winter*. Als die Sommerverhältnisse im Laboratorium künstlich nachgeahmt wurden, betrug die Artenzahl 14,3 je Zählung, während bei der Parallelanlage unter normalen Bedingungen im Mittel 11,3 Arten je Zählung gefunden wurden. Da auch im ersten Versuchsteil bei 8 und 17° (Tab. 3) das Verhältnis der Artenzahlen ähnlich war wie hier bei Sommer und Winter, so scheint diese Schwankung in der Hauptsache durch die *Temperatur* hervorgerufen zu sein.

Während bei den niederen und mittleren Temperaturen im ersten Versuchsteil die Individuenzahl umgekehrt proportional der Artenzahl war, wurden bei den *jahreszeitlichen Untersuchungen im Sommer gleichzeitig die meisten Arten und Individuen* gefunden. Ebenso beobachtete *Crozier* (51) an Tropfkörpern bei Rhicopoden und Ciliaten ein direkt proportionales Verhalten der Genera und Spezies. Die Zahl der Arten war bei seinen Untersuchungen eine lineare Funktion des Logarithmus der entsprechenden mittleren Zahlen der Individuen.

Tab. 7. Einfluß der Jahreszeit, im Belebtschlamm beobachtete Arten.

Anlage	1 Versuchsanlage I		2 Versuchsanlage II		3 Wahren		1—3 Betriebsanlagen Durchschn.		4 Labor.-Anlage	
Jahreszeit (So. = Mai—Sept.) (Wi. = Nov.—März)	So.	Wi.	So.	Wi.	So.	Wi.	So.	Wi.	So.	Wi.
Zahl d. Bestimmungen	39	37	35	32	24	26	98	95	38	44
Zoogloeen	100	100	100	97	96	92	99	97	95	95
Sphaerotilus	98	100	100	100	96	100	98	100	100	100
Kleine Mastigophoren	98	100	100	100	100	92	99	98	100	98
Amoeben (prot., verrucosa, radiosa). .	74	22	49	12	87	27	68	20	82	64
Dactylosphaerium .	36	27	37	6	50	12	40	16	45	29
Hyalodiscus	5	19	20	34	4	38	10	29	21	5
Arcella vulgaris . .	23	0	0	0	0	0	9	0	50	11
Peranema	10	0	0	0	0	0	4	0	45	0
Astrosiga	0	0	3	0	0	0	1	0	3	25
Amphimonas	10	22	46	37	16	8	25	23	10	10
Euglena	0	3	3	0	0	0	1	1	0	0
Dinobryon	18	0	3	0	0	4	8	1	3	0
Prorodon	0	0	0	0	0	0	0	0	40	23
Lionotus spec. . . .	87	97	80	34	96	54	87	64	74	82
Lionotus fasciola . .	23	0	0	6	8	0	11	2	24	18
Lionotus anser . . .	8	3	0	0	8	0	5	1	45	14
Chilodon cucul. . .	20	16	0	0	0	0	8	6	32	14
Chilodon unc. . . .	20	32	5	0	8	31	12	21	24	20
Dysteria fluv. . . .	74	70	51	24	46	31	59	44	60	18
Enchelys	10	0	10	0	21	0	13	0	3	0
Didinium	0	0	0	0	0	0	0	0	8	10
Sphatidium	0	3	0	0	0	0	0	1	18	22
Loxophyllum . . .	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Amphileptus	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0
Paramaecium (caudatum, aurelia) .	3	8	0	0	0	0	1	3	53	61
Balantiophorus . . .	3	3	3	0	0	0	2	1	0	2
Cinotochilum	3	0	0	0	0	0	1	0	11	0
Colpidium	5	24	17	21	0	4	8	18	0	2
Glaucoma	3	5	5	6	0	0	3	4	0	0
Stentor Roeseli . .	0	0	0	0	0	0	0	0	32	7
Stentor coeruleus . .	0	0	0	0	0	0	0	0	18	0
Spirostomum	0	0	0	0	0	0	0	0	11	0
Metopus	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0
Aspidisca cost. . . .	92	100	63	53	87	65	81	74	68	82
Euplotes patella . .	8	5	5	9	0	0	5	5	50	25
Euplotes charon . .	25	38	3	0	0	0	11	14	8	34
Stylonichia	49	59	57	15	29	10	47	33	82	93
Oxytricha	3	0	0	0	0	0	1	0	3	2
Vorticella	98	100	100	100	100	96	99	99	98	95
Opercularia berb. . .	82	81	77	53	83	77	81	70	55	95
Epistylis	36	0	14	0	25	8	26	2	36	10
Carchesium	10	3	31	0	0	0	15	1	16	0

Tab. 7. (Fortsetzung.)

Anlage	1 Versuchsanlage I		2 Versuchsanlage II		3 Wahren		1—3 Betriebsanlagen Durchschn.		4 Labor.-Anlage	
Jahreszeit (So. = Mai—Sept.) (Wi. = Nov.—März)	So.	Wi.	So.	Wi.	So.	Wi.	So.	Wi.	So.	Wi.
Zahl d. Bestimmungen	39	37	35	32	24	26	98	95	38	44
Podophrya	38	10	28	0	46	19	37	9	21	5
Tokophrya	31	3	31	0	21	0	29	1	18	11
Acineta grandis . .	0	0	0	0	4	0	1	0	0	0
Nematoden	72	30	31	12	42	11	50	18	98	77
Rotatorien (Rotifer, Hydatina, Callidina, Cathypna, Brachionus)	25	5	0	3	54	8	24	5	79	34
Oligochaeten	0	0	0	0	0	0	0	0	11	0
Zahl der beobachtet. Arten insgesamt .	36	29	28	19	23	20	39	32	42	35
Durchschnitt je Bestimmung	13,0	10,9	10,7	7,3	11,3	8,0	11,7	8,9	16,5	13,0

Zusammenfassung.

Bei der biologischen Abwasserreinigung verläuft die Oxydation des anorganischen Stickstoffs etwa zwischen 2 und 25° nach der van 't Hoffschen Regel (RGT-Regel). Das Optimum für die Nitratbildung wurde bei 26°, das für die Nitritbildung bei 35° gefunden. In ähnlicher Weise wird die Klarheit des biologisch gereinigten Wassers durch die Temperatur beeinflußt, wofür der günstigste Wert bei 29° ermittelt wurde.

Der Einfluß der Temperatur auf den Abbau der organischen Substanz ist verhältnismäßig sehr gering. Zwischen 15 und 30° ist die Oxydationsgeschwindigkeit ziemlich konstant. Bei 8° trat ein schwacher Rückgang ein, oberhalb 35° ging die Leistung stark zurück. Eine aerobe thermophile Abwasserreinigung konnte nicht durchgeführt werden. Bei Temperaturen nahe dem Nullpunkt war der Abbauprozeß zunächst stark verzögert. Im Laufe von Wochen paßte sich aber die Lebewelt des Belebtschlammes der Kälte an, so daß die Leistung nach 2 Mon. nicht viel schlechter war als bei 8°.

Der verhältnismäßig geringe Einfluß der Temperatur auf die Oxydation der organischen Substanz im Vergleich zu der des anorganischen Stickstoffs wird darauf zurückzuführen sein, daß die organische Substanz durch sehr viele Bakterienarten abgebaut werden kann, so daß sich innerhalb eines weiten Temperaturbereiches wirksame Bakterien dafür finden, was bei der Nitrifikation nicht in dem Maße der Fall ist.

Der Wassergehalt des Belebtschlammes war bei mittlerer Temperatur am höchsten. Dieser Schlamm enthielt auch am meisten Sphaerotilus. Ebenso hatte er die höchste Artenzahl der Protozoen und Metazoen, während die höchste Individuenzahl bei niederer Temperatur beobachtet wurde. Oberhalb 44° waren praktisch nur noch Bakterien vorhanden. Das Temperaturoptimum der Bakterien des gereinigten Wassers lag jeweils in der Nähe der Temperatur, bei der die Anlage betrieben worden war.

Im Laufe des Jahres schwankt die Temperatur des Rohwassers in der Kläranlage etwa zwischen 8 und 20°. Die Konzentration ist im Sommer wegen des höheren Reinwasserverbrauches schwächer als im Winter. Die jahreszeitlichen Schwankungen in der Wirkungsweise der beobachteten biologischen (4 Belebtschlamm- und 1 Tropfkörperanlage) waren eher noch geringer, als sich aus den Unterschieden der Temperatur und Konzentration des Abwassers ergibt. Wahrscheinlich wird der Reinigungsvorgang im Sommer dadurch etwas verzögert, daß das Rohwasser weniger frisch ist als im Winter.

Der Wassergehalt des Belebtschlammes sowie sein Gehalt an Sphaerotilus, Zoogloeen, kleinen Mastigophoren und Amoeben wies keine Periodizität auf. Doch setzte der Schlamm in den Nachklärbecken im Sommer und Herbst schlechter ab als im Winter und Frühjahr. Im Sommer war sowohl die Individuenzahl als auch die Artenzahl der Protozoen und Metazoen des Belebtschlammes am höchsten. Die kleinen Holotrichen zeigten in der warmen Jahreszeit ein starkes Maximum; diese Schwankung scheint z. T. unabhängig von äußeren Faktoren zu sein.

Literatur.

1. Viehl, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 86. 1932. S. 34. — 2. Cambier, Compt. Rend. T. 170. 1920. p. 681. — 3. Sierp, in: Brix, Imhoff und Weldert, Die Stadtentwässerung Deutschlands. Bd. 2. S. 307. Jena (Fischer) 1934. — 4. Schloesing und Muntz, Compt. Rend. T. 89. 1879. p. 1074. — Lohnis, Mitt. d. landw. Instituts d. Universitat Leipzig. Bd. 7. 1905. — Lohnis, Vorlesungen uber landwirtschaftl. Bakteriologie. Berlin (Borntrager) 1913. — v. Bazerewski, Beitrage zur Kenntnis der Nitrifikation und Denitrifikation im Boden. Diss. Gottingen 1906. — 5. Hatfield, Sewage Works Journ. Vol. 3. 1931. p. 175. — 6. Rudolfs, Ebenda. Bd. 5. 1933. S. 903. — 7. Greenfield und Elder, Ind. Eng. Chem. Bd. 18. 1926. S. 291. — 8. A. E. Cooper, E. A. Cooper und Heward, Biochem. Journ. Bd. 13. 1919. S. 345. Ref. in: Chem. Zentralbl. Bd. 1920 II. S. 290. — 9. Streeter und Phelps, Publ. Health Rep. Vol. 41. 1926. p. 247. — Phelps, Sewage Works Journ. Vol. 2. 1930. p. 559. — Theriault, Publ. Health Bull. No. 173. 1927. p. 81. — 10. Meyerhof, Pflugers Archiv. Bd. 164. 1916. S. 353. — 11. Coolhaas. Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 76. 1928. S. 38. — Kellermann und McBeth, Ebenda. Bd. 34. 1912. S. 485; Bd. 39. 1914. S. 502. — 12. Dehérain, Compt. Rend. T. 98. 1884. p. 377. — Lafars Handb. d. techn. Mykologie. Bd. 3. S. 419. Jena (Fischer) 1904—1906. — 13. Krantz, Binnenversorgung durch Bodenkraftvermehrung. Augsburg-Stuttgart (Benno Filser) 1924. — Ruschmann, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 70. 1927. S. 214, 383; Bd. 72. 1927. S. 193; Bd. 73. 1928. S. 177; Bd. 75. S. 182. — Glathe, Die landwirtschaftl. Versuchsstation. Bd. 107. S. 65.
14. Earp Thomas, Amerikan. Patent Nr. 1 938 647 vom 23. 10. 1931. Ref. in: Chem. Zentralbl. Bd. 1934 I. S. 2330; Sewage Works Journ. Vol. 5. 1933. p. 364. — 15. Kanitz, Biolog. Zentralbl. Bd. 27. 1907. S. 11. — Kanitz, Temperatur und Lebensvorgange. Berlin (Borntrager) 1915. — Przibram, Temperatur und Temperatoren im Tierreich. Leipzig u. Wien (Deuticke) 1923. — Crozier, Journ. Gen. Physiology. Vol. 7. 1925. p. 123, 137, 189, 429, 571, 705. — Loeb, Pflugers Archiv. Bd. 124. 1908. S. 411. — Loeb und Wasteneys. Biochemische Ztschr. Bd. 36. 1911. S. 345. — 16. Sierp, Techn. Gemeindebl. Bd. 27. 1924/25. S. 213. — Fair und Moore, Sewage Works Journ. Vol. 6. 1934. S. 3. — 17. Heukelekian, Sewage Works Journ. Vol. 5. 1933. p. 757. — 18. Hamburg-Eisenberg, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 88. 1933. S. 200. — 19. Schmiedt, Techn. Gemeindebl. Bd. 35. 1932. S. 169. — 20. I. Schiller, Arch. f. Protistenk. Bd. 56. 1921. S. 1. Ztschr. f. Bot. Bd. 23. 1930. S. 132. Ref. in: Zool. Ber. Bd. 26. 1931. S. 354. — 21. Szalonniewicz, Ztschr. ind. Abst. Vererb. Bd. 52. 1929. S. 414; Ref. in: Zool. Ber. Bd. 23. 1930. S. 353. — 22. Löhnis, Handb. d. landw. Bakteriologie. S. 687, 739. Berlin (Borntrager) 1910. — 23. Dieudonné, Arb. Kais. Gesundheitsamt. Bd. 9. 1894. S. 492. — 24. Mischustin, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 66. 1926. S. 328. — 25. Gubitz, Milchwirtschaftl. Forsch.

Orig. Bd. 5. 1928. S. 407. — 26. Forster, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 12. 1892. S. 431. — 27. Rubentschik, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 72. 1927. S. 127. — 28. M. Muller, Arch. f. Hygiene. Bd. 47. 1903. S. 127. — 29. P. E. Brown und Smith, Agric. Exp. Stat. Jowa College Agric. Res. Bull. v. 4. 1. 1912. Zit. nach Harder, Botan. Gazette. Vol. 61. 1916. p. 509. — 30. Schonbrunn, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 56. 1922. S. 545. — 31. Butschli, Bronns Tierreich. 3. Abt. Infusorien. S. 1589. — Woodruff und Baitsell, Amer. Journ. Physiology. Vol. 29. 1911. p. 147. — Michelson, Archiv f. Protistenkde. Bd. 61. 1928. S. 167. — 32. Khainsky, Archiv f. Protistenkde. Bd. 21. 1910. S. 1. — W. H. Cole, Journ. Gen. Physiology. Vol. 7. 1925. p. 581. — 33. Glaser, Journ. Gen. Physiology. Vol. 7. 1925. p. 177. — 34. Mieder und Viehl, Vom Wasser. Bd. 5. 1931 (Verlag Chemie). S. 236. — 35. Mieder, Gesundheits-Ingenieur. Bd. 52. 1929. S. 394. — 36. Viehl, Gesundheits-Ingenieur. Bd. 56. 1933. S. 283. — 37. Eigenbrodt, Gesundheits-Ingenieur. Bd. 53. 1930. S. 21. — 38. Demine, 12. Bericht der Abwasserkommission der Stadt Moskau 1930. Ref. in: Sewage Works Journ. Vol. 3. 1931. p. 150. — 39. Imhoff, Techn. Gemeindebl. 1928. Bd. 30. S. 301. — 40. Sierp, Kleine Mitt. d. Preuß. Landesanst. f. Boden-, Wasser- u. Lufthygiene. 1927. Beih. 5. S. 20. — 41. Limbach, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 78. 1929. S. 354. — 42. Townsend, Engineering News Record. 1933. S. 586. — 43. Fries, Gesundheits-Ingenieur. Bd. 54. 1931. S. 661. — 44. Bowlus, Surveyor. 1933. p. 421. Ref. in: Wasser u. Abwasser. Bd. 32. 1934. S. 55. — 45. Straßburger, Gas- u. Wasserfach. Bd. 75. 1932. S. 101. — 46. Metcalf und Eddy, Sewerage and sewage disposal. New York (McGraw-Hill Book Comp.) 1930. p. 650. — 47. Copeland, Journ. Ind. Eng. Chem. Vol. 8. p. 642. Ref. in: Chem. Zentralbl. 1920. IV. S. 219. — 48. Lederer, Journ. Ind. Eng. Chem. Vol. 8. p. 652. Ref. in: Chem. Zentralbl. 1920. IV. S. 220. — 49. Eddy und Yales, Journ. Ind. Eng. Chem. Vol. 8. p. 648. Ref. in: Chem. Zentralbl. 1920. IV. S. 220. — 50. Schulze-Forster und Haase, Gesundheits-Ingenieur. Bd. 56. 1933. S. 608. — 51. Crozier, Science. Vol. 58. 1923. p. 424. Ref. in: Zool. Ber. Bd. 5. 1925. S. 469.

Untersuchungen über die Tibi-Gärung.

Vorläufige Mitteilung.

[Aus dem botanischen Institut der Universität Bern.]

Von **S. Blumer.**

Mit 5 Abbildungen im Text.

Seit einigen Jahren wird in der Schweiz und wohl auch anderswo in vielen Familien ein moussierendes Hausgetränk hergestellt. Die Gärungserreger sind weiße Körnchen von unregelmäßiger Form und Größe, die etwas an gekochten Reis erinnern (Abb. 1). Sie verursachen in Rohrzuckerlösungen, denen man einige Feigen, Weinbeeren und eine Zitronenscheibe beifügt, eine intensive Gärung. Diese Körnchen sind zweifellos mit dem von Lutz (3, 4) beschriebenen Tibi identisch. Sie scheinen schon um 1890 in Paris unter der Bezeichnung „graines vivantes" oder Tibi bekannt gewesen zu sein. Nach Lutz stammen die Körner aus Mexiko, wo sie auf Opuntiafeigen vorkommen. Die Ergebnisse der Arbeiten von Lutz wurden in die Lehr- und Handbücher (Fuhrmann, Lafar, Handwörterbuch der Naturwissenschaften) übernommen, doch scheint dieser interessante Gärungserreger in neuerer Zeit nicht mehr untersucht worden zu sein. Da

in den Tageszeitungen in letzter Zeit Artikel uber diesen Gärungserreger erschienen, die von ganz irrigen Voraussetzungen ausgingen, begann ich vor einem halben Jahre diese Gärungserscheinungen zu studieren. Ich möchte nicht verfehlen, dem Direktor des botanischen Institutes, Herrn Prof. Dr. Schopfer, für seine Mithilfe bei diesen Untersuchungen, sowie für seine wertvollen Anregungen meinen besten Dank auszusprechen. Ebenso danke ich Herrn Apotheker Dr. O. Grogg fur die Beschaffung des Materials.

Schon die oberflächliche mikroskopische Untersuchung der Körner zeigt, daß sie aus Hefen und Bakterien bestehen, die in einer weißlichen Grundsubstanz eingebettet sind. Viollier (6) (offenbar in Anlehnung an die in der Tagespresse erschienenen Angaben) betrachtet die Grundsubstanz der Korner als Agar. Fur diese Annahme spricht einerseits die Resorzin-Probe, die sowohl fur die Körner, wie auch für Agar nach Hydrolyse eine deutliche Rotfärbung ergibt und anderseits die fur beide Substanzen positive Fehlingsche Reaktion nach Hydrolyse und Neutralisation. Diese Reaktionen können aber nicht die Identität beider Substanzen beweisen; sie zeigen nur, daß in den Tibikörnern, wie auch im Agar durch Hydrolyse reduzierende Kohlehydrate entstehen. Bestünde die Grundsubstanz der Körner aus Agar, so müßte sich diese Substanz beim Erwärmen über 100° verflüssigen. Das ist aber nicht der Fall. Körner, die im Autoklaven 20 Min. bei 120° gehalten wurden, veränderten ihre Form und Größe nicht. Gegen die Annahme, daß es sich um Agar handelt, spricht auch die schon von Lutz erwähnte Tatsache, daß sich die Tibikorner in der Kulturflüssigkeit stark vermehren. Auch auf den Feigen, die auf der Oberfläche der Kulturflüssigkeit schwimmen, bilden und vermehren sich die Körner. Diese Vermehrung erfolgt besonders in den ersten Tagen der Gärung und macht nach Gewicht und Volumen etwa 100% aus.



Abb. I. Tibikorner, schwach vergrößert.

Um einige vorläufige Anhaltspunkte über die Vermehrung zu erhalten, wurde das Frischgewicht der Körner vor und nach der Gärung bestimmt, indem das Wasser durch Auspressen in einem Tuche so gut als möglich entfernt wurde. Zugleich sollte durch diesen Versuch festgestellt werden, welche Zusatzstoffe der gebräuchlichen Kulturflüssigkeit (Feigen, Weinbeeren, Zitronen) für die Vermehrung der Körner unbedingt notwendig sind. Die Ergebnisse sind aus der folgenden Zusammenstellung ersichtlich. Obschon das angewandte Verfahren bedeutende Fehlerquellen in sich schließt, erscheinen mir die erhaltenen Zahlen doch so eindeutig, daß wohl auch die noch auszuführende Bestimmung des Trockengewichtes kaum wesentlich abweichende Ergebnisse zeitigen wird.

Kulturflüssigkeit	Frischgewicht der Körner vor der Gärung g	nach der Gärung g
10% Rohrzucker, Feigen, Weinbeeren, Zitronen	49,2	85,8
10% Rohrzucker, Feigen, Weinbeeren, Zitronen	49,8	106,2
10% Rohrzucker, Feigen, Weinbeeren	50,0	107,4
10% Rohrzucker, Feigen, Zitronen	49,5	110,5
10% Rohrzucker, Feigen	49,4	104,9
10% Rohrzucker, Zitronen, Weinbeeren .	49,5	49,7
10% Rohrzucker, Zitronen	49,8	51,3
10% Rohrzucker, Weinbeeren	49,4	52,6

Die Gärung war in allen Kulturen ungefähr gleich intensiv. Diese vorläufigen Ergebnisse zeigen, daß nur bei Zusatz von Feigen eine deutliche Vermehrung der Körner erfolgt. Zitronen und Weinbeeren werden offenbar nur zur Verbesserung des Geschmackes beigegeben. In synthetischen

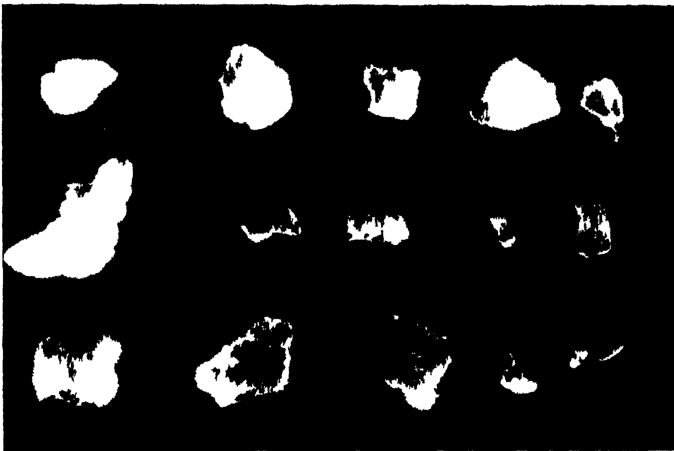


Abb. 2. Aus einer „Einkornkultur" entstandene Körner.

Nährlösungen konnte ich bis jetzt nie eine Vermehrung der Körner beobachten. Es wird nun Aufgabe der weiteren Untersuchung sein, festzustellen, welche Stoffe in der Feige für die Körnervermehrung von Bedeutung sind.

Die Vermehrung der Körner konnte auch in Versuchen festgestellt werden, in denen die Kulturlösung nur mit einem Korn beimpft wurde. Die meisten dieser „Einkornkulturen" mißlangen, weil offenbar durch die an den Früchten haftenden Hefen starke und störende Nebengärungen eintraten. In einem Falle erhielt ich aus einer solchen Kultur nach 9 Tagen die in Abb. 2 abgebildeten Körner. Auch auf diese Weise läßt sich feststellen, daß eine starke Vermehrung der Substanz eintritt, was nicht denkbar wäre, wenn es sich um Agar handeln würde.

Die Körner nehmen in der Gärflüssigkeit durch starke Vermehrung der Bakterien und Hefen an Größe zu. Im Innern bilden sich als Folge der Gärung Kohlensäureblasen. Diese erscheinen als heller Kern und machen

das Korn spezifisch leichter, so daß es in der Flüssigkeit schwebt oder schwimmt. Es scheint, daß nun das Korn durch den von diesen Kohlensäureblasen ausgeübten Druck einfach gespalten wird, worauf die entstehenden Tochterkörner wieder zu Boden sinken. Bei intensiver Gärung werden die Körner auch durch äußerlich anhaftende Kohlensäureblasen an die Oberfläche getrieben, wo sie die Kohlensäure abgeben und sofort wieder absinken.

Die mikroskopische Untersuchung der Körner zeigt, daß ihre Grundsubstanz nicht aus einer homogenen Masse besteht, sondern aus den Schleimkapseln eines Bakteriums. Diese Kapseln sind gerade oder wurmförmig gebogen und erinnern in dieser Ausbildung stark an die Schleimscheiden des von Ward (7) beschriebenen Bacterium vermiforme im Ingwerbier oder auch an die Abbildungen, die Lindner (2) für eine mit Hefen vergesellschaftete Form des Bacterium xylinum gibt. Diese Schleimscheiden konnten bis jetzt mit den gebräuchlichen Farbstoffen nicht gefärbt werden. Nach dem schwach positiven Ausfall der Millonschen Reaktion wie nach der oben erwähnten Fehlingschen Probe kann man diesen Bakterienschleim als aus Glykoproteiden bestehend betrachten [Grogg (1)]. Das Bakterium erscheint in flüssigen Kulturen als Stäbchen ohne Schleimhülle oder in Form von langen Fäden, die durch unvollkommene Teilung entstehen. Lutz (2) hat das Bakterium isoliert und als Bacillus mexicanus beschrieben, doch scheint diese Art in der neueren bakteriologischen Literatur nicht mehr zu figurieren.

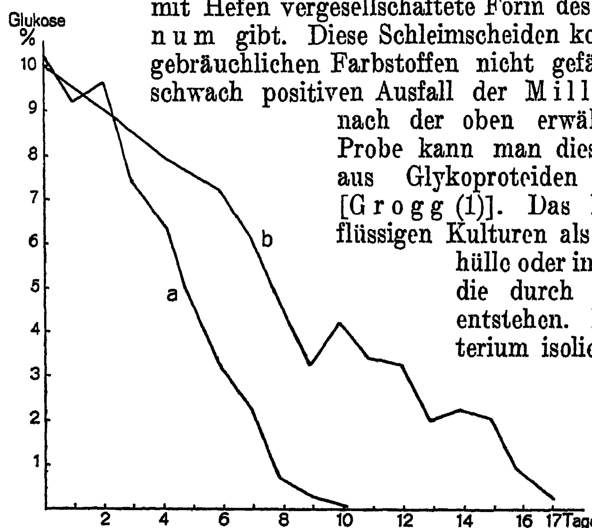


Abb. 3. Zuckerverbrauch des Konsortiums: a) bei normaler, b) bei anormaler Gärung.

Die Hefe bildet auf Malzagar gut begrenzte gelbliche Kolonien. Die Zellen sind in Größe und Form sehr variabel. Nicht selten tritt Hyphenbildung auf. In den verwendeten Nährlösungen (Raulin, modifizierte Coonsche Lösung) wird eine deutliche silberweiße Kahmhaut gebildet. In Gipsblockkulturen entstehen leicht und reichlich Askosporen ohne sichtbare sexuelle Vorgänge. Lutz (2) hat die Hefe als Saccharomyces Radaisii beschrieben, später wurde sie der Gattung Pichia zugewiesen.

Die Lebensäußerungen dieses Konsortiums sind je nach der Aktivität der beiden Partner sehr verschieden. Im „natürlichen Substrat“ (Rohrzucker mit Zusatz von Früchten) beginnt schon nach etwa 12 Std. eine deutliche Gärung, die vom 2. Tage an sehr heftig ist. In einer modifizierten Coonschen Lösung (0,5$^0/_{00}$ Magnesiumsulfat, 1,5$^0/_{00}$ Kaliumphosphat, 0,5$^0/_{00}$ Asparagin, 10% Glukose) setzt die Gärung etwas später ein, wird aber dann ebenso intensiv. Nach 1 Woche nimmt die Gärung ab und nach 10 Tagen sind in den Glukosekulturen kaum noch Spuren von Zucker nachzuweisen (Abb. 3, Kurve a).

Unter Umständen kann sich aber dasselbe Material unter den gleichen Versuchsbedingungen ganz abweichend verhalten, wie aus Abb. 3, Kurve b hervorgeht. Hier ist der Zuckerverbrauch bedeutend kleiner, am 17. Tage waren noch meßbare Mengen von Glukose nachzuweisen. In diesem Versuche trat zuerst eine deutliche Kahmhautbildung auf, erst nach 5 Tagen entwickelte sich Kohlensäure, die in der ziemlich dicken Kahmhaut große Aufwölbungen verursachte. Die Gärung war in Versuch b nie so intensiv wie in Versuch a. Die Ursache für diese auffälligen Verschiedenheiten sind wohl im gegenseitigen Verhältnis der beiden Partner des Konsortiums zu suchen. Schon Lutz beobachtete, daß die Hefe in Reinkultur überhaupt keine Gärung verursacht, sondern nur eine Kahmhaut bildet. Auch in meinen Versuchen mit einer aus den Körnern isolierten Hefe wurde der Zucker nicht vergoren. Wir haben also die Ergebnisse von Versuch b wohl dahin zu deuten, daß das Bakterium zuerst inaktiv war, wodurch die Gärung verhindert wurde. Erst im Laufe des Versuches fing das Bakterium sich auch an zu entwickeln, was sich in schwacher Gärung und in einem stärkeren Abfall der Zuckerkurve auswirkte.

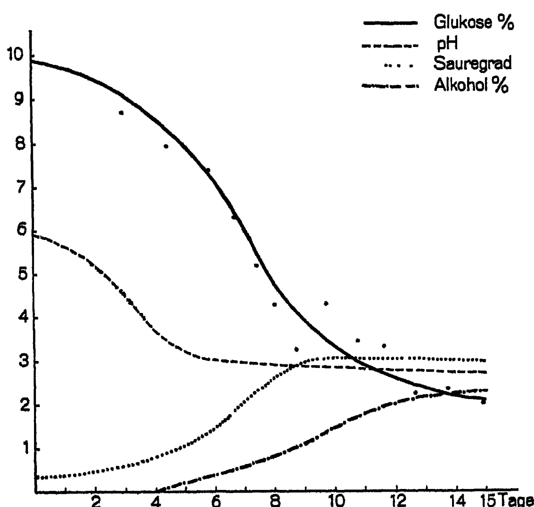


Abb. 4.

Beim Vergleich der beiden Kurven in Abb. 3 fällt ferner auf, daß Kurve a viel regelmäßiger und ausgeglichener verläuft als Kurve b. Dies ist durch eine andere Versuchsanordnung bedingt. Für Versuch a wurden große Erlenmeyerkolben von 2 Liter Inhalt verwendet. Die tägliche Entnahme der Kulturflüssigkeit erfolgte durch Entnahme einiger ccm mittels des „extracteur stérile", wie er von Schopfer[1]) konstruiert und angewendet wurde. In Versuch b dagegen wurden einzelne Erlenmeyerkolben mit je 100 ccm Nährlösung verwendet, wobei sich natürlich je nach dem Zustande des Impfmaterials gewisse Unterschiede zwischen den einzelnen Kolben zeigen mußten.

Dieselben Verschiedenheiten zeigen sich auch in der Alkoholbildung. In einer normal gärenden Kultur in der „natürlichen Nährlösung" sind schon nach 12 Std. meßbare Mengen von Alkohol nachzuweisen. Der Alkoholgehalt steigt dann ziemlich regelmäßig bis auf etwa 4 Vol.-Proz. (vgl. Abb. 5). In älteren Kulturen habe ich wiederholt über 7% Alkohol gefunden.

Im erwähnten Versuch b setzte dagegen die Alkoholbildung erst am 5. Tage ein. Bis zu dieser Zeit scheint die Glukose assimiliert worden zu sein. Da die Gärung in diesem Versuche auch später nie sehr intensiv war, wurde relativ wenig Alkohol gebildet, die letzten Bestimmungen ergaben einen Alkoholgehalt von 2,3 Vol.-Proz. (Abb. 4), während bei normaler Gärung schon nach 8 Tagen über 4% gemessen wurden. Versuche mit der

[1]) Schopfer, W. H., Berichte Schweiz. Bot. Gesellsch. Bd. 42. 1933. S. 136.

Hefe allein in synthetischen Nährlösungen zeigten überhaupt keine Gärung und deshalb auch keine Alkoholbildung.

Die Tibigärung ist mit bedeutender Säurebildung verbunden. In älteren Kulturen nimmt diese so überhand, daß die Flüssigkeit ungenießbar wird. Grogg (1) hat in der Gärflüssigkeit Essigsäure, Milchsäure und Ameisensäure nachgewiesen. Durch Titration mit 0,1 n Natronlauge habe ich in einigen Versuchen die Menge der beständigen und flüchtigen Säuren bestimmt. Die Gesamtsäure wurde für die graphische Darstellung in den Abb. 4 und 5 nach Janke-Zikes[1]) in Säuregrade umgerechnet, d. h. es wurde die Anzahl Kubikzentimeter n-Natronlauge berechnet, die zur Neutralisation von 20 ccm der Flüssigkeit verbraucht wird. Die Zunahme der beständigen und fluchtigen Säure verläuft im allgemeinen ziemlich parallel. Die flüchtigen Säuren kommen (als Essigsäure berechnet) in Konzentrationen von 0,1—0,5% vor. Abb. 4 zeigt, daß die Säuremenge mit dem Eintritt der Gärung stark zunimmt. Diese Erscheinung stimmt mit der Annahme überein, daß die Gärung überhaupt erst durch erhöhte Aktivität des Bakteriums zum Durchbruch kommt. Jedenfalls ist eine gewisse Parallelität zwischen Säurebildung und Gärung unverkennbar.

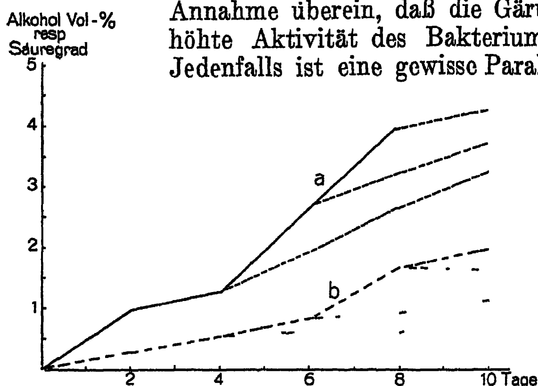


Abb. 5. Alkoholbildung (a) und Sauregrad (b) in der „naturlichen Lösung". Die abzweigenden (gestrichelten resp. punktierten) Linien bezeichnen die Veranderungen des Alkoholgehaltes und des Sauregrades der in verschlossene Flaschen abgefüllten Flussigkeit.

Schließlich wurde in einigen Versuchen die Wasserstoffionenkonzentration auf kolorimetrischem Wege bestimmt. In „natürlichen" wie auch in synthetischen Nährlösungen zeigte sich ein starker Abfall der ph-Werte zu Beginn des Versuches (Abb. 4).

Die Hausfrauen, die Tibi verwenden, lassen die Kulturflüssigkeit 2 bis 4 Tage gären, dann wird sie grob filtriert und in verschlossene Flaschen abgefüllt. Es wurde nun geprüft, in welcher Weise sich die in Flaschen abgezogene Flüssigkeit im Vergleich zur Ausgangskultur verändert. Die Ergebnisse sind in Abb. 5 dargestellt. In erster Linie fällt auf, daß der Alkoholgehalt auch in den Flaschen zunimmt, wenn auch etwas langsamer als in der Ausgangskultur. Die Gärung geht in den Flaschen weiter, bis der Zucker verbraucht ist. Die Kulturflüssigkeit ist reich an Hefen und Bakterien. Der Säuregrad verändert sich nach dem Abfüllen in Flaschen nicht mehr wesentlich.

Es handelt sich bei den Tibikörnern sicher nicht nur um ein zufälliges Nebeneinandervorkommen von 2 Organismen. Wir können das Konsortium wohl als eine primitive Symbiose bezeichnen. Wie bei einer echten Symbiose haben wir hier ein gewisses Gleichgewicht zwischen den beiden Organismen, das sich in einem normalen gleichmäßigen Ablauf der Gärung zeigt. Wie in jeder Symbiose kann das Gleichgewicht durch irgendwelche unbekannte

[1]) Janke-Zikes, Arbeitsmethoden der Mikrobiologie. 1928. S. 91.

Ursachen zerstört werden. In unserem Falle kann eine Abweichung in der Aktivität der Bakterien eine deutliche Änderung in den Lebensäußerungen des Konsortiums zur Folge haben: Die Gärung wird gehemmt oder kann überhaupt ausbleiben. Ob auch die Hefe einen Einfluß auf den Stoffwechsel des Bakteriums und damit des Konsortiums ausübt, ist bis jetzt nicht bekannt, erscheint aber durchaus wahrscheinlich.

Als zweites Kriterium der Symbiose kann man das Auftreten von Lebensvorgängen bezeichnen, die unter normalen Bedingungen weder beim einen noch beim anderen Partner vorkommen. Es gehört direkt in die Gattungsdiagnose von Pichia, daß diese Hefen nur Kahmhautbildner, aber nicht Gärungserreger sind. Das Bakterium muß also hier stimulierend wirken. Es ist natürlich gut denkbar, daß eine solche Stimulation auch durch andere Stoffe bewirkt werden kann. Dafür spricht die Tatsache, daß es Lutz (3) gelang, auch in Reinkulturen der Hefe Gärung zu induzieren, wenn er sie in einem sehr komplexen Medium (flüssige Rübenbouillongelatine) mehr oder weniger in Anaerobiose wachsen ließ. Lutz folgert aus dieser Erscheinung, daß die Gärung nur durch anaerobiotische Lebensweise der Hefe bedingt sei. Die Rolle des Bakteriums wäre also in dieser Symbiose nach der Annahme von Lutz eine sehr einfache. Er nimmt an, daß die Hefe bei aerober Lebensweise den Zucker des Mediums assimiliere und den Sauerstoff der Luft benütze. Wird die Hefe aber durch das Bakterium eingehüllt und damit zur Anaerobiose gezwungen, so verschafft sie sich nach Lutz den nötigen Sauerstoff durch Vergärung des Zuckers. Es muß aber bemerkt werden, daß auch bei der (aeroben) Kahmhautbildung immer zahlreiche Hefezellen, die unter der kompakten Kahmhaut leben, unter anaeroben Bedingungen stehen und trotzdem keine Gärung hervorrufen. Versuche mit Pyrogallolverschluß, die vielleicht diese Frage abklären könnten, haben bis jetzt keine befriedigenden Resultate ergeben, da durch den starken Sauerstoffentzug die Hefe überhaupt abgetötet wurde. Nach den neueren Ergebnissen der Symbioseforschung muß man sich fragen, ob bei dieser engen Vergesellschaftung der beiden Organismen wirklich nur mechanische Ursachen für das Auftreten der Gärung in Betracht kommen. Es wäre auch denkbar, daß durch Stoffwechselprodukte des Bakteriums die Gärungsenzyme der Hefe aktiviert werden könnten. Es erscheint nicht ausgeschlossen, daß in den Körnern neben der Kahmhauthefe auch noch andere gärungserregende Hefen vorhanden sind.

Wir haben endlich in der Vermehrung der Tibikörner ein drittes Kriterium für ihre symbiotische Natur. Diese Vermehrung ist als eine konsortiale zu bezeichnen, da in jedem Tochterkorn beide Partner vorhanden sind. Diese Vermehrung kann ohne weiteres mit der Propagation durch Thallusbruchstücke bei den Flechten verglichen werden.

Es wäre interessant, festzustellen, ob die Hefen und Bakterien des Tibi nur im Konsortium vorkommen, oder ob es sich um weiter verbreitete Organismen handelt.

Zusammenfassung.

1. Die als Tibikörner bezeichneten Gärungserreger stellen ein Konsortium von Bakterien und Hefen dar. Ihre Grundsubstanz wird durch die Schleimkapseln der Bakterien gebildet.

2. Die Körner vermehren sich, indem sie durch Kohlensäureblasen, die im Innern entstehen, zersprengt werden.

3. Der Verlauf der Gärung wird stark durch die Anwesenheit und Aktivität des Bakteriums bedingt. In Reinkulturen der Hefe scheint in flüssigen synthetischen Medien keine Gärung einzutreten.

4. Das Konsortium der Tibikörner ist als eine primitive Symbiose aufzufassen.

Literatur.

1. Grogg, O., Ein interessanter Gärungserreger. (Schweiz. Apothekerztg. Bd. 72. 1934. S. 231—233. — 2. Lindner, P., Die vermeintliche neue Hefe Medusomyces Gisevii. (Ber. Dtsch. Bot. Ges. Bd. 31. 1913. S. 364—368.) — 3. Lutz, L., Recherches biologiques sur la constitution du Tibi. (Bull. Soc. Mycol. France. T. 15. 1899. p. 68—72.) — 4. Lutz, L., Nouvelles recherches sur le Tibi. (Ebenda. 1899. p. 157—162.) — 5. Lutz, L., Associations symbiotiques du Saccharomyces Radaisii Lutz. (Ebenda. T. 22. 1906. p. 96—98.) — 6. Viollier, R., Mitteilungen aus der Laboratoriumspraxis. Alkoholfreie Getränke. (Mitt. aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene. veröffentlicht vom eidg. Gesundheitsamt in Bern. Bd. 25. 1934. H. 1. S. 59.) — 7. Marshall, Ward H., The Ginger-Beer Plant, and the Organisms composing it: a Contribution of the Study of Fermentation Yeasts and Bacteria. (Philosoph. Transactions of the Royal Soc. London. Vol. 183. 1892. p. 126—197.)

Referate.

Bücher, Institutsberichte usw.

Michaelis, L., Oxydations-Reduktions-Potentiale. Zweiter Teil der „Wasserstoffionenkonzentration". 2. Aufl. Monogr. aus d. Gesamtgeb. d. Physiologie d. Pflanzen u. Tiere. Bd. 17. 259 S. Berlin (Julius Springer) 1933. Preis 18 RM., geb. 19,60 RM.

In bedeutender Erweiterung der ersten wird in der vorliegenden 2. Auflage der „Oxydations-Reduktions-Potentiale" versucht, eine Brücke zwischen kinetischer und thermodynamischer Betrachtungsweise des Stoffwechsels zu bauen; dabei wird zwangsläufig und in betonter Herausstellung die Anwendungsmöglichkeit thermodynamischer Begriffe auf physiologisches Geschehen abgegrenzt.

Wie in der ersten Auflage werden im ersten Teil die theoretischen Grundlagen der Redoxpotentiale erörtert; in Berücksichtigung neuer Erkenntnisse ist dieser um folgende Abschnitte erweitert: Der atomistische Mechanismus der Potentialeinstellung an der reversiblen indifferenten Elektrode. Das Grenzpotential. Semichinone und zweistufige Oxydationen. Die mathematische Analyse der zweistufigen Oxydation. Langsam verlaufende sekundäre Reaktionen. Das Verhalten irreversibel oxydierbarer Körper gegen die indifferenten Elektroden und Betrachtungen über das Wesen der irreversiblen Oxydationen. Die Oxydations-Reduktionskatalysatoren. Träge reversible Systeme.

Der zweite Teil behandelt die physiologischen Anwendungen und ist um folgende Abschnitte bereichert: Dialursäure-Alloxan. Das Pigment von Chromodoris. Pyocyanin. Aldehyd. Das Wesen der Grenzpotentiale in Geweben und Zellen.

Verf. bezeichnet selbst als den Hauptinhalt seiner Monographie das im Rahmen der Arbeitsleistung der Zelle liegende Teilproblem, reversible chemische Systeme zu suchen, die in den lebenden Organismen ihre freie Energie der Zelle für ihre energetische Leistung zur Verfügung stellen. Da sowohl die Herausstellung der Probleme wie auch ihre Behandlung in der vom Verf.

bekannten gründlichen und dabei vorsichtig kritisch abwägenden Art durchgeführt ist, kann nach der ersten das Studium der erweiterten zweiten Auflage des Werkes nicht nur dem physikalischen Chemiker, sondern auch jedem Biologen eindringlich empfohlen werden. Dies gilt auch für den Bakteriologen, obgleich Verf. wegen mangelnder eigener experimenteller Anschauung speziell bakteriologische Anwendungen leider nicht aufnehmen konnte.

Pfeil (Berlin-Dahlem).

Molisch, Hans, Pflanzenchemie und Pflanzenverwandtschaft. Jena (Fischer) 1933. 118 S. 8°.

In seiner bekannten anregenden Form weist der Verf. den Systematiker auf die bestehenden Beziehungen zwischen Chemismus und Verwandtschaft der Pflanzen hin. Da, wo Morphologie und Anatomie versagen, vermag manchmal ein gemeinsamer biochemischer Zug den phylogenetischen Faden weiterzuspinnen. Ein ausgedehntes Beweismaterial soll dartun, daß die Pflanze in ihrem Evolutionsgang gelegentlich zäh an bestimmten biochemischen Sonderheiten festhält, die nicht selten den Wert charakteristischer Konstitutionsmerkmale annehmen. Dank seiner großen Erfahrung bleibt sich Verf. jedoch der Grenzen der biochemischen Verwandtschaftsforschung durchaus bewußt und verschweigt auch die Fälle nicht, wo sie versagt. Etwas optimistisch erwartet Verf. von einem weiteren Ausbau der Methoden der Pflanzenanalyse einen bedeutsamen Fortschritt der phylogenetischen Forschung. Unter diesem Aspekt stellt sich Verf. auch positiv zur Serum-Diagnostik ein, deren Entwicklung eingehend geschildert wird. Des weiteren werden die Erfahrungen über Transplantation, Sexual- und Individualstoffe zur Stützung der Forderung chemischer Verwandtschaftsforschung herangezogen. In loserem Zusammenhang hierzu stehen die Ausführungen über die Sachssche Theorie der organbildenden Stoffe, sowie der Wuchshormone.

In seinen Darlegungen bleibt Verf. auf dem Standpunkt statischer biochemischer Forschung stehen, während Ref. von einem Vorstoß ins dynamische Gebiet des Stoffwechselphysiologischen auch für die Verwandtschaftsforschung neue Impulse glaubt erwarten zu können. Nicht nur was die Pflanze an Stoffen produziert, offenbart ihre Eigenart, sondern in höherem Maß noch die Art, wie sie die einzelnen Stoffwechselvorgänge dirigiert. Eine vergleichende Stoffwechselphysiologie wird zweifellos tieferen Einblick in die Eigenart der Pflanze vermitteln, als eine an der Oberfläche klebende vergleichende Biochemie. Wetzel (Leipzig).

Allgemeines und Methodisches.

Hanne, R., Kontrolle und Prüfung von Sterilisationsapparaten mit Thermoelementen. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 116. 1934. S. 44—56.)

Zur Bestimmung des Wärmeverlaufes im Innern der Apparate genügt nicht das Einlegen von Maximalthermometern. Auch Klingelthermometer oder Stichertsche Röhrchen geben keinen brauchbaren Anhalt. Hier befriedigt nur ein Thermoelement, wie es von Konrich für die Sterilisationspraxis besonders geprüft ist. Der auf Grund dieser Forschungen von der Fa. Lautenschläger hergestellte Wärmemesser „Dromotherm" ist von Konrich bereits eingehend beschrieben worden. Verf. konnte an Hand dieses Instrumentes verschiedene wesentliche Fehler im Bau und im Betrieb speziell der im Krankenhaus gebrauchten Sterilisatoren nachweisen. Rodenkirchen (Königsberg Pr.).

Holopow, A. und **Schkilko, I.**, Ein Metallexsikkator für Anaerobenkulturen. (Laboratoriumpraxis. Nr. 3. 1934. S. 9—11.)

Es wird die Einrichtung eines Kupferexsikkators beschrieben, aus welchem die Luft in solchem Maße ausgepumpt werden kann, daß keine Sauerstoffabsorption durch Pyrogallol erforderlich ist.

A. Imšenecki (Leningrad).

I. G. Farbenindustrie A.-G., Verfahren zur Gewinnung von Mikroorganismen für Enthaarungszwecke. (D.R.P. Nr. 541 831.)

Von einer Reihe von Bakterienstämmen, die von schwitzender Haut in bekannter Weise auf verschiedenen eiweißhaltigen Agarnährböden isoliert worden waren, wurden Überimpfungen auf sterile Epidermis, zweckmäßig nach Zusatz von 0,1% sek. Kaliumphosphat und 0,1% Pepton vorgenommen. Hierbei machte sich Bact. ochraceum, ein auf Milchagar isolierter Stamm, durch energischen Abbau der Epidermis besonders bemerkbar. Es wurde wiederholt auf von Corium befreite Epidermis übergeimpft, wodurch seine Enzymwirkung noch erheblich gesteigert wurde. Seine enthaarende Wirkung war den auf nicht spezifischen Nährböden gezüchteten Bakterien weit überlegen.

Limbach (Leipzig).

Spengler, O. und **Weidenhagen, R.**, Verfahren zur Darstellung von Fruktose auf enzymatischem Wege. (D.R.P. Nr. 577 427, vom 31. 5. 1933.)

Die enzymatische Spaltung des Polysaccharids Inulin ist bisher nur mit Auszügen aus den Myzelien von Schimmelpilzen, wie Penicillium oder Aspergillus niger, in meßbarem Maße möglich gewesen, und zwar nur unter Anwendung sehr großer Fermentmengen und sehr langer Versuchszeiten. Nun wurde gefunden, daß das Rohrzucker spaltende Enzym Inulin quantitativ in Fruktose überführt, wenn man es in der genügenden Stärke anwendet. Eine β-h-Fruktosidase vom Enzymwert 380 spaltet beispielsweise in einer Menge von 200 mg mehrere Gramm Inulin in 1 Tage vollständig in Fruktose. Das neue Verfahren eignet sich vorzüglich zur Darstellung von reiner Fruktose, besonders weil man danach bei Zimmertemperatur arbeiten kann und den sehr temperaturempfindlichen Zucker in völlig farbloser Lösung erhält. Außerdem findet die enzymatische Spaltung bereits bei einem pH von 4,7 statt, wo Zersetzungen des Zuckers, die bei Anwendung von Säuren unvermeidlich sind, nicht eintreten. Der Zucker ist bereits ohne Umkristallisation rein.

Limbach (Leipzig).

Kühl, H. und **Soltau, G.**, Herstellung von Stärke. (D.R.P. Nr. 577 540, vom 1. 6. 1933.)

Der Fortschritt der vorliegenden Erfindung besteht in der Verwendung von Stärke nicht hydrolytisch spaltenden Joghurtbakterien. Eine vom Institut für Gärungsgewerbe stammende Kultur des Bact. Delbrückii wurde mittels eines Verstäubers in 100 g Reismehl des Handels eingespritzt. Die so erhaltene Kultur wurde in einer Partie mit 200 ccm sterilem Wasser übergossen im Thermostaten bei 40° C belassen. Es trat starke Säuerung ein. Bei mikroskopischer Untersuchung zeigten sich augenscheinlich abgelöste, d. h. verletzte Stärkekörner. Nach 24 Std. wurden 1,35% Milchsäure titriert. Arbeitete man in gleicher Weise mit einer auf Milchzucker-Milchagar gezüchteten Reinkultur des Joghurtbakteriums, so trat keine Säuerung ein;

benutzte man jedoch eine aus Molken gewonnene Kultur, so ließ sich nach 24 Std. eine kräftige Säuerung feststellen, die allerdings die des Bact. Delbrückii nicht erreichte. Sie betrug 0,47% Milchsäure. — Die Vorteile in der Benutzung des Joghurtbakteriums zur Reisstärkegewinnung liegen also, verglichen mit den bei gewöhnlicher Temperatur gärenden Säuren, darin, daß eine Infektion im Betriebe leicht auszuschalten ist, weil das Bakterium wie auch das Bact. Delbrückii bei verhältnismäßig hoher Temperatur erst wächst und gärt. Infolgedessen sind die abfallenden bzw. anfallenden Abwässer als reine Milchsäureeiweißlösungen sehr wertvoll. Vor dem in Brauerei- und Brennereibetrieben so wertvollen Bact. Delbrückii haben die Joghurtbakterien den großen Vorzug, daß ihre Verwendung zu keinem Stärkeverlust führt. Limbach (Leipzig).

Herzberg, K., Viktoriablau zur Färbung von filtrierbarem Virus (Pocken-, Varizellen-, Ektromelia- und Kanarienvogelvirus). (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 131. 1934. S. 358—366.)

Eine 3proz. Lösung von Viktoriablau 4 R färbt in wenigen Minuten die verschiedenen Vira, ohne daß eine Fixierung oder Beizung notwendig wäre. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virusuntersuchungen.

Wenzl, H., Beiträge zur Physiologie von Azotobakter. (Österr. Botan. Ztschr. Bd. 83. 1934. S. 57—61.)

Gelegentlich eines vergeblichen Versuchs, in Kulturen von Azotobacter chroococcum als Zwischenprodukt der N-Bindung Hydroxylamin mit Azeton abzufangen, beobachtete Verf. schlauchartige Riesenzellen, fungoide Formen, die ihre Entstehung dem Einfluß des Azetons verdankten. Ferner beobachtete Verf., daß Azotobacter agile den bekannten fluoreszierenden Farbstoff nicht bildete, falls an Stelle von Mannit milchsaures Natrium als C-Quelle verwendet wurde.

Engel (Berlin).

Walker, R. H., Anderson, D. A. und Brown, P. E., Physiological studies on Rhizobium. I. The effect of nitrogen source on oxygen consumption by Rhizobium leguminosarum Frank. (Soil Science. Vol. 37. 1934. p. 387—402.)

Der mikromanometrisch nach der Warburg-Methode gemessene Sauerstoffverbrauch stieg proportional der als Kulturmedium dienenden Hefeextraktmenge. Andere N-Quellen wie NH_4Cl, $NaNO_3$, Harnstoff und Alanin vermochten dagegen die O_2-Aufnahme der Bakteriumkulturen nicht zu fördern. Worauf die Wirkung des Hefeextraktes zurückzuführen war, ob es sich um besonders wirksame N-Verbindungen handelte, um besondere Vitamine oder Wuchsstoffe, um Schwermetalle usw., konnte nicht ermittelt werden. Zu den Versuchen dienten Reinkulturen der Knöllchenbakterien der Erbse. Engel (Berlin).

Roberg, M., Über den Erreger der Wurzelknöllchen von Alnus und den Elaeagnaceen Elaeagnus und Hippophaë. (Jahrb. d. wiss. Bot. Bd. 20. 1934. S. 472—492.)

Verf. klärt die Frage, ob die Rhizothamnienbildung an der Erle, Öl-

weide und am Sanddorn von dem gleichen Organismus hervorgerufen wird. Bei Alnus und obigen Elaeagnaceen sind zwei verschiedene Organismen an der Wurzelknöllchenbildung beteiligt. Es handelt sich um Strahlenpilze, die vorläufig den Namen Actinomyces Alni bzw. A. Elaeagni erhalten haben. A. Alni vermag auf Elaeagnaceen und umgekehrt A. Elaeagni auf Erlen keine Rhizothamnien zu bilden. Die Strahlenpilze auf Elaeagnus und Hippophaë sind miteinander identisch. Actinomyces in Symbiose mit Alnus und Elaeagnaceen hat die Fähigkeit, den Luftstickstoff zu binden. In Wasserkultur geben die Wurzelknöllchen keinen organisch gebundenen Stickstoff ab. Sowohl die Erlen wie auch die Ölweidengewächse können sich dann ohne Wurzelknöllchen normal entwickeln, wenn genügend Nitrate zur Verfügung stehen. Bärner (Berlin-Dahlem).

Stern, E. O., Über Dissoziation der tuberkulösen Bakterien der Fische (Bacterium tuberculosis piscium) bei kombinierter Wirkung von Röntgenstrahlen, Kupfer und Gold. (Ann. de Roentg. et de Radiol. T. 13. Nr. 1—2. p. 44—58. 1934.)

Bei Untersuchung der bakteriziden Wirkung von $CuSO_4$ und $Au(S_2O_3)Na_3$ (Sanokrisin) wurde festgestellt, daß Kupfersulfat stärkere toxische Wirkung auf die Bakterien ausübt, als Sanokrisin. Bei kombinierter Wirkung von Röntgenstrahlen und der erwähnten Salze war im Beisein von Sanokrisin der bakterizide Einfluß stärker infolge der hohen Atomzahl des Metalles. Röntgenstrahlen allein töten 34,6% der Zellen, Sanokrisin allein 15,8%, $CuSO_4$ allein 49,1%. Bei gleichzeitiger Wirkung von Röntgenstrahlen und Sanokrisin werden 78,5% Zellen getötet, bei gleichzeitiger Wirkung von Strahlen und $CuSO_4$ — 62,4%. Die erwähnten Salze wie auch die kombinierte Wirkung derselben mit Röntgenstrahlen bewirken außer Hemmung der Entwicklung der Kulturen und teilweiser Tötung der Zellen auch Dissoziation der Kulturen der tuberkulösen Bakterien. Aus der Anfangsform R entstehen die S- und O-Formen. Der Typus S, dessen Wachstum auf verschiedenen Nährböden charakteristisch ist, zeigte kurze Stäbchen mit groben Körnern. Dieser Typus ist widerstandsfähiger gegen die Wirkung der Kupfer- und Goldsalze, gegen wiederholte Bestrahlung und hohe Temperatur. Der Zwischentypus O ist nicht widerstandsfähig und ergibt nach wiederholter Bestrahlung oder Erwärmung den Ausgangstypus R. Verf. beschreibt ausführlich die Formen R, S und O des B. tuberculosis piscium. A. Imšenecki (Leningrad).

Kaschkin, P., Rassenbildung bei Bakterien der Fischtuberkulose (Bacterium tuberculosis piscium) unter dem Einfluß ultravioletter Bestrahlung. (Ann. de Roentg. et de Radiol. T. 13. Nr. 1—2. 1934. p. 59—79.) [Russisch.]

Dem Studium der Rassenbildung ging Untersuchung der bakteriziden Wirkung der ultravioletten Strahlen voraus. Es erwies sich, daß bei Bestrahlung der Emulsion von B. tuberculosis piscium in physiologischer NaCl-Lösung und Glyzerin-Bouillon nach 7 Min. Sterilisation eintritt. Auf Glyzerin-Agar waren alle Zellen nach 15 Min. zerstört und auf Kartoffel trat völlige Vernichtung der Kolonien erst nach Bestrahlung während 25 Min. ein. Unter dem Einfluß ultravioletter Strahlen trat Disso-

ziation mit Bildung von S- und R-Formen ein. Charakteristisch für den Typus S ist feuchtes, glattes, glänzendes Wachstum, leichtes Emulgieren, schwarz-violette Färbung der Kultur auf Kartoffel und Fleisch-Pepton-Gelatine, zartes Häutchen, gleichmäßige Trübung und flockiger Niederschlag auf flüssigen Nährböden. Typisch für die R-Form sind trockene, feinfaltige, rauhe, graugelbe Kolonien, die sich schwer abnehmen lassen und schwer emulgieren, feinhöckriges Häutchen und Fehlen der Trübung auf flüssigen Nährböden. Mikroskopisch läßt sich kein wesentlicher Unterschied zwischen beiden Typen beobachten. Kulturen von gemischtem Typus sind nach Ansicht des Verf.s nicht Übergangsformen von S und R, sondern gemischte Kolonien. Zur Bestimmung ihrer Widerstandsfähigkeit wurden Kulturen beider Typen ultravioletter Bestrahlung unterworfen, ferner dem Einfluß erhöhter Temperatur (45—60° im Verlauf von 5—30 Min.), dem Einfluß von Kupfersulfat und Zink, der Kultivierung auf verschiedene Nährböden (24 Nährböden). Der S-Typus erwies sich sehr widerstandsfähig gegen die erwähnten Einwirkungen und gibt „spontan" keine neuen Rassen. Der R-Typus gibt im Gegensatz hierzu unter dem Einfluß physikalischer und chemischer Faktoren den glatten Typus, ferner „spontane" Dissoziation, besonders bei andauerndem Kultivieren (6—8 Monate) auf Glyzerin-Bouillon und Kartoffelbrühe. A. Imšenecki (Leningrad).

Kriwisski, A., Einfluß der Röntgenstrahlen und der ultravioletten Strahlen auf die Entwicklung der Sarzinen. (Ann. de Roentg. et de Radiol. T. 13. Nr. 1—2. 1934. p. 80—92.) [Russisch.]

Bei Bestrahlung von Sarcina aurantiaca, S. lutea und S. urea erwies es sich, daß dieselben, bei verschiedener Empfindlichkeit gegen ultraviolette und gegen Röntgenstrahlen, widerstandsfähiger gegen die Bestrahlung sind als eine Anzahl anderer Bakterien. Unter dem Einfluß der Bestrahlung verändert sich die Form der Pakete, der Umfang der Zellen nimmt zu und die letzteren werden körnig oder vakuolisiert. Ultraviolette Strahlen hemmen die Sporenbildung der S. urea, stabile asporogene Rassen wurden jedoch nicht gewonnen. Neue Rassen ergab unter der Bestrahlung nur S. lutea, und zwar findet bei Rassenbildung Abnahme des Pigmentes statt. Die durch Röntgenbestrahlung gewonnene Rasse A bestand aus einzelnen Zellen, die zu 2 und 4 lagen, und kurzen Ketten. Zellenpakete fehlten und die Kultur hatte Ähnlichkeit mit Pediokokkenkulturen. Ältere Kulturen der Rasse enthielten Riesen- und Zwergformen und wiesen bedeutende Polymorphie auf. Die Rasse B gleicht der Rasse A. Die Rasse C besaß kein Pigment (Leukorasse) und wies schwächeres Wachstum auf. Aus dieser Rasse wurde die hellrötlich gefärbte Rasse gewonnen. Morphologisch und in betreff der Zellenbildung standen die Rassen B und C der Rasse A sehr nahe. Die neuen Rassen sind meist nicht völlig stabil, ihre Dissoziation ergibt eine Anzahl neuer Formen und führt oft zur Rückkehr zur Ausgangsform. A. Imšenecki (Leningrad).

Stern, E. A. und Kriwisski, A. I., Fernwirkung von Metallen auf Struktur und Entwicklung von Bacillus myc. Fl. (Compt. Rend. Acad. Sc. U.R.S.S. T. 2. Nr. 4. 1934. p. 254—257.) [Russisch.]

Ein Objektträger mit einer dünnen Schicht von erstarrtem Fleisch-

Pepton-Agar wurde mit B. mycoides geimpft. Der Objektträger wurde darauf umgewandt und auf verschiedene Metallplatten derartig befestigt, daß zwischen Objektträger und Metall ein Abstand nicht über 0,5—0,7 mm blieb. Die Verff. benutzten auch die Methode des hängenden Tropfens. In diesem Fall war der Boden der durch einen Glasring und das Deckglas gebildeten Kammer aus Metall. Mittels dieser Methode wurde festgestellt, daß die Fernwirkung der Metalle mit schwerem Atomgewicht auf die Entwicklung des Bac. mycoides eine hemmende ist. Die Stärke der Wirkung ist dem Atomgewicht entsprechend Pb > Au — Pt > Mg. Unter dem Einfluß der Metalle wird die Sporenbildung gehemmt und es treten stark von den normalen Zellen abweichende Involutionsformen auf. Veränderte Zellen findet man nur in den peripheren Teilen der Kolonien, daraus ist ersichtlich, daß schon einige Schichten Bakterienzellen die Metallwirkung hemmen. A. Imšenecki (Leningrad).

Jexmoljewa, Z. W., Bujanowskaja, I. S. und Beljajewa, E. N., Über den Kohlenhydratstoffwechsel in Mischkulturen. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 131. 1934. S. 301—308.)

Die Menge der durch ein Kultur- oder Fermentgemisch zersetzten Maltose-Mannitmenge ist so gut wie nie gleich der Summe der Wirkungen, die die Mikroben oder ihre Fermente in Einzelverwendung gegenüber Maltose oder Mannit ausüben. So bildeten z. B. Typhusbazillen und Staphylokokken im Gemisch Gas, was bekanntlich bei Einzelkulturen nicht der Fall ist. — Die Bakteriolysate (Auflösung der Bakterienkultur durch spezifische Bakteriophagen, bei Staphylokokken durch Lysozym) entfalteten bei der Zersetzung von Mannit und Maltose und bei der Bildung von flüchtigen Säuren und von Gas eine erheblich stärkere Aktivität als die Kulturen derselben Mikroben. Rodenkirchen (Königsberg Pr.).

Wikullil, L. v., Über den quantitativen Dextroseabbau in Coli-Paratyphus B-Mischzuchten. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 116. 1934. S. 11—14.)

Für jeden Bakterienstamm gibt es, wie Bail erstmalig gezeigt hat, eine Höchstzahl von Individuen, die unter gleichen Umständen lebend angetroffen werden können. Diese Höchstzahl ist die sog. M- (maximal-) Konzentration. Es hat sich aber weiter ergeben, daß in Mischpopulationen von Keimarten, die die gleiche M-Konzentration aufweisen, bei gleichzeitiger und gleichzahliger Beimpfung nicht die Summe der lebenden Zellen der einzelnen Arten nachweisbar ist, sondern nur diejenige Menge an lebenden Zellen, wie sie der M-Konzentration der Einzelkultur entspricht. Diese bisher auch schon von anderer Seite festgestellte Tatsache konnte Verf. außerdem durch Prüfung des Dextroseabbaues der Bakterienarten bestätigen. Es ergab sich also dabei, daß in den Mischkulturen nicht die doppelte Menge Dextrose abgebaut wurde, sondern nur diejenige Menge, die Bact. coli und Bact. paratyphi B allein zu spalten imstande sind, trotzdem beide Arten in den Mischkulturen vorhanden und zur Entwicklung gelangen. Rodenkirchen (Königsberg Pr.).

Neufeld, F. und Kuhn, H., Untersuchungen über „direkten" Bakterienantagonismus. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 116. 1934. S. 95—110.)

Unter direktem Bakterienantagonismus werden Hemmungserscheinungen verstanden, bei denen eine Beteiligung von Fermenten und Bakteriophagen nicht erkennbar ist und bei denen die in Tierversuchen beobachteten Reizwirkungen nicht in Frage kommen. Versuche über diesen direkten Antagonismus in vitro nach der Methode von Etinger-Tulczynska zeigten deutliche Hemmungswirkungen nicht nur zwischen nahestehenden Arten, sondern auch selbst zwischen verschiedenen Typen der gleichen Art, wie zwischen Pneumokokken verschiedener Typen und verschiedener Virulenz. Bei geeignetem Mengenverhältnis kann sogar ein sehr schwach virulenter Stamm einen hoch virulenten in vitro wie auch in vivo unterdrücken. Die absolute Größe der Einsaaten spielt dabei ebensowenig eine Rolle wie das Volumen der Nährbodenflüssigkeit, es kommt fast nur an auf das zahlenmäßige Verhältnis der Einsaatmengen zueinander. Versuche mit S- und R-Formen bestätigten den eben erwähnten Fall, daß von zwei Stämmen verschiedener Virulenz der virulentere nicht immer der stärkere Antagonist ist. — Pseudodiphtheriebazillen werden sehr stark durch echte Diphtheriebazillen gehemmt, Milzbrandbazillen durch Friedländerbazillen und Pyocyaneus. Diese Hemmung wurde auch beobachtet in der nach scharfem Zentrifugieren über dem Bodensatz stehenden klaren Flüssigkeit und in etwas schwächerem Grade in dem Abguß davon, nicht aber in Berkefeldfiltraten. Die Hemmungswirkung des Zentrifugates und Abgusses ist also sehr wahrscheinlich durch die immerhin (wenn auch zunächst spärlich) noch vorhandenen lebenden Bakterien bedingt. — Die Theorie uber den direkten Bakterienantagonismus wird abgeleitet aus den Forschungsergebnissen von Bail und von Wikullil über Bakterienpopulationen. Danach beruht der Antagonismus auf der verschiedenen Größe der maximalen oder M-Konzentration der Bakterienarten, d. h. auf der Zahl von lebenden Keimen, die in einem bestimmten Lebensraum im Höchstfall erreicht wird. Läßt man nun zwei Stämme mit wesentlich verschiedener M-Konzentration in Mischkultur wachsen, so unterdrückt der Stamm mit der größeren M-Konzentration den anderen, und zwar um so stärker, je größer die Differenz der M-Zahlen ist.

Rodenkirchen (Königsberg Pr.).

Sakamura, T. und Yoshimura, F., Über die Bedeutung der H-Ionenkonzentration und die wichtige Rolle einiger Schwermetallsalze bei der Kugelzellbildung der Aspergillen. (Journ. Faculty of Science, Hokkaido Imp. University, Series V. Botany. Vol. 2. 1933. p. 317—331.)

In einer vorhergehenden Arbeit hatte Sakamura (ebenda Vol. 1. 1930. p. 1) die bekannte „Blasenzellbildung“ bei Aspergillus auf den Einfluß der H-Ionenkonzentration zurückführen wollen. In der vorliegenden Abhandlung konnte aber festgestellt werden, daß es sich höchstwahrscheinlich um eine Schwermetallwirkung handelt, die mit dem Säuregrad der Nährlösung in engem Zusammenhang steht. Cu-, Zn- und andere Salze vermochten jene eigenartigen Zellbildungen hervorzurufen, die Verff. jetzt als Kugelzellen bezeichnen. Es mußte sich um die Wirkung der Metallionen handeln; denn mit abnehmender cH und infolgedessen zunehmender Ausfällung der Schwermetalle nahm die Kugelzellenbildung ab. Die früheren Beobachtungen müssen auf jene Spuren von Zn usw. zurückgeführt werden, die selbst in den reinsten Chemikalien häufig noch enthalten sind.

Engel (Berlin).

Mast, S. O., and Pace, D. M., Synthesis from inorganic compounds of starch, fats, proteins and protoplasm in the colorless animal, Chilomonas paramaecium. (Protoplasma. Vol. 20 s. 1933. p. 326—358, 1 pl.)

Der farblose Flagellat Chilomonas paramaecium enthält in der Regel viel Stärke und Fett, ohne Chlorophyll zu besitzen. Er nährt sich nur von gelösten Substanzen. Für den Aufbau seines Protoplasmas sind Stickstoff, Kohlenstoff, Sauerstoff, Magnesium, Kali und Schwefel notwendig, sonstiges, wenn überhaupt, in äußerst kleinen Mengen. Er gedeiht in Dunkelheit ebensogut oder gar ein wenig besser, als am Licht und kann bei völligem Fehlen des letzteren aus anorganischen Verbindungen Kohlehydrate, Fette, Proteine aufbauen, denn er wächst und teilt sich freudig in steriler Lösung von $MgSO_4$, K_2HPO_4, $NaC_2H_3O_2$ und Glycin, teilt sich darin bei 24° mehrmals am Tage und produziert viel Fett und Stärke. Es wird noch eine andere Lösung angegeben, mit der das gleiche erreicht wird. Stickstoff kann Chilomonas aus Aminosäuren oder Ammoniakverbindungen gewinnen, dagegen nicht aus Nitraten, Nitriten oder der Luft, Kohlenstoff nicht aus Carbonaten, aber zum Beispiel aus Kohlensäure und Glucose. Es werden weitere Einzelheiten über die Ernährung des Flagellaten mitgeteilt. K. Friederichs.

Enzymologie und Bakteriophagie.

Haehn, H. und Leopold, H., Zum weiteren Ausbau unserer Kenntnisse über die Hefeautolyse. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 51. 1934. S. 97—100.)

Der Auflösungsprozeß beginnt bei glykogenhaltiger Hefe zunächst mit einer alkoholischen Selbstgärung, später erst reagieren die verdauenden Enzyme aus der Gruppe der Papainasen. Zunächst werden die hochmolekularen Eiweißstoffe von den Proteinasen der Hefe in Polypeptide verwandelt. Dann erfolgt der Angriff der Polypeptidasen, die Zerlegung der niederen Polypeptide zu Dipeptiden, worauf die Dipeptidasen die Aminosäuren liefern. Man gelangt also durch einen dreiphasigen Prozeß mit Hilfe dreier Enzymgruppen von scharf getrennter Spezifität zu den niedrigsten Bausteinen der Eiweißstoffe. Neben den erwähnten Abbauvorgängen gehen aber auch noch andere Umsetzungsprozesse vor sich, worauf schon die Tatsache schließen läßt, daß mit der Autolyse eine Säuerung verbunden ist. Zu erwähnen ist hier der Abbau der Nukleine und Nukleinsäuren. Diese Säurebildung im Verein mit sterilem Arbeiten verhindert auch das Aufkommen von Fäulnisbakterien bei der Autolyse. Diese kommen erst auf bei Anwendung unrichtiger Temperaturen, durch Alkalisierung oder Unsauberkeiten. Die Bakterien bilden dann unangenehme Fäulnisgeruchstoffe und gefährliche Eiweißgifte. Aus dem Cystin, das bis zu 2% in der Hefe enthalten ist, werden Schwefelwasserstoff und Merkaptane entbunden, das Tryptophan liefert die bekannten Indolderivate, in erster Linie Skatol. Die beim Eiweißabbau gefundenen Bakterien gehören der Typhus- und Paratyphusgruppe an. Heuß (Berlin).

Bach, A., Iermoljewa, L. und Stepanjan, M., Bindung des freien Stickstoffes bei gewöhnlicher Temperatur und gewöhnlichem Luftdruck durch Enzyme aus Stickstoff bindenden Bakterien. (Compt. Rend. Acad. Sc. de U.R.S.S. T. 1. Nr. 1. 1934. p. 22—24.) [Russisch.]

Es wurde die biologische Synthese des Ammoniaks durch Azotobacter chroococcum erforscht. Derselbe wurde auf einem Nährboden, der auf ein Liter 0,2 g K_2HPO_4 und 20 g Mannit oder Glukose enthielt, kultiviert. Der Nährboden wurde auf mit $CaCO_3$ bestreute Gelplatten gegossen. Die Kolonien des Az. chroococcum wurden nachher mit sterilisiertem Quarzsand verrieben und mit der Buchnerschen Presse ausgepreßt. Die Hälfte des Saftes wurde durch die Chamberlandsche Kerze L_{III} filtriert, die andere Hälfte pasteurisiert. Zu den Versuchen der enzymatischen Bindung des Stickstoffes wurden 5 ccm Saft, 22,5 ccm 1proz. Mannit oder Glukoselösung und 22,5 ccm Phosphatlösung ph 7,2 genommen. In den Kontrollversuchen wurde Zucker durch Wasser ersetzt. In der Lösung wurde der Anfangsgehalt des Ammoniakstickstoffes und des Gesamtstickstoffes bestimmt und diese Untersuchungen weiterhin nach bestimmten Zwischenräumen wiederholt. Jede Probe wurde auf ihre Sterilität geprüft. Mittels dieser Methode gelang es Verff. festzustellen, daß der aus Az. chroococcum ausgepreßte Saft fähig ist, Ammoniak zu synthetisieren. Zugabe von Mannit zum Bakteriensaft erhöht die Menge des gebundenen Stickstoffs, im Vergleich zur Kontrolle um das 15fache. Zugabe von Glukose um das 19fache. Das Ammoniak ist fast das einzige Produkt der Stickstoffbindung durch die Enzyme. Der filtrierte Saft wirkt stärker als der pasteurisierte. Während in lebenden Kulturen auf 1 g Glukose 0,0025 bis 0,016 g gebundener Stickstoff gefunden wird, geben Versuche mit ausgepreßtem Saft auf 1 g Glukose 0,276 g Gesamtstickstoff, darunter 0,223 g Ammoniakstickstoff. Gleichzeitig studieren die Verff. Bakterien, die molekularen Wasserstoff als Energiequelle ausnützen. Vielleicht könnte es gelingen, durch Mischung der Enzyme dieser Bakterien mit Azotobakterenzymen aus einer Mischung von Luft mit Wasserstoff im Überschuß Ammoniak zu gewinnen. A. Imšenecki (Leningrad).

Nadson, G. und Stern, E., Wirkung der ultravioletten, Röntgen- und der Radiumstrahlen auf die Amylase. (Ann. de Roentg. et de Radiol. T. 13. Nr. 1—2. 1934. p. 35—43.)

Auf Stärkeagar in Petrischalen wurde Amylase aufgetragen. Die Schalen wurden mit einem Pappdeckel mit ausgeschnittenem Kreuz bedeckt. Verff. stellten bei Bestrahlung der Schalen mit ultravioletten Strahlen und nachfolgender Bearbeitung der Agaroberfläche mit Jod fest, daß die Amylase nach Bestrahlung im Verlauf von 20 Min. zerstört wird, indem bei erwähnter Bearbeitung stets ein dunkelblaues Kreuz auf blaßgelblichem Grunde hervortrat. Bei vorheriger Bestrahlung nur des Fermentes mit ultravioletten Strahlen trat nach 15 Min. gleichfalls seine Inaktivierung ein. Röntgenstrahlen üben auf die Amylase sehr schwache Wirkung aus. Sekundäre Röntgenstrahlen (Blei als Radiator) zerstören indes die Amylase und Stärke gibt bei Jodbearbeitung blaue Färbung. Radon in Dosen von 2,38 mc. (24 Std.) bis 6,6 mc. (48 Std.) inaktiviert gleichfalls Amylase. Alle Veränderungen der Jodfärbung des Stärkeagars hängen nicht, wie durch entsprechende Untersuchungen festgestellt wurde, von Veränderungen der Stärke selbst durch die Bestrahlung ab. A. Imšenecki (Leningrad).

Miwa, I. und Yoshii, S., Über die Bildung der Urease bei Aspergillus niger. (Science Reports Tokyo Bunrika Daigaku. Section B. Vol. 1. 1934. p. 243.)

Entgegen anderer Ansicht konnte gezeigt werden, daß der Pilz in seinem Myzel Urease bilden und gleichzeitig Harnstoff in die Kulturlösung ausscheiden kann. Zucker- und Fettzusatz förderten die Bildung der Urease, wobei die Harnstoffabscheidung nachließ. Die Aktivität der Urease war in hohem Maße von der H-Ionenkonzentration abhängig, indem sie mit zunehmenden Säuregraden ebenfalls zunahm. Diese Abhängigkeit war nicht bei KNO_3 als N-Quelle zu beobachten. Nach Verbrauch des Zuckers sowie mit dem Altern des Pilzes nahm die Ureasebildung wieder ab.

Engel (Berlin).

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Seidel, F. und Heller, R., Verfahren zum Entkeimen und Haltbarmachen von flüssigen Nahrungsmitteln. (D.R.P. Nr. 571 024, vom 23. 2. 1933.)

Die Erfindung betrifft ein Verfahren und die dazugehörige Vorrichtung zum Entkeimen und Haltbarmachen verschiedener flüssiger Nahrungsmittel, z. B. Milch, Wein, vegetabilische Öle, unter Vermeidung nachteiliger Veränderungen, wie sie die bekannten Verfahren mit sich bringen. Das Verfahren beruht in der gleichzeitigen Einwirkung einer stillen elektrischen Entladung im luftverdünnten Raum und eines magnetischen Kraftfeldes, wobei darauf zu achten ist, daß eine die Milch schädigende Temperatur von etwa 63° nicht erreicht werden darf. Mittels der beschriebenen Methode wird Milch so konserviert, daß ihre natürliche Zusammensetzung unter Abtötung schädlicher Keime vollständig erhalten bleibt; auch wird der Vitamingehalt in keiner Weise ungünstig beeinflußt. Genaue Angabe der verwendeten Apparatur nebst Arbeitsvorschriften siehe Original-Patentschrift.

Limbach (Leipzig).

Fromray Parent Cy., Verfahren und Vorrichtung zum Frischhalten von Milch. (D.R.P. Nr. 574 703, vom 19. 4. 1933.)

Nach dem Verfahren wird die Milch mit ultravioletten und ultraroten Strahlen behandelt. Beide Strahlenarten werden durch Lampen ausgesendet, die in die Milch eintauchen. Diese wird währenddessen erwärmt, bis im wesentlichen eine Temperatur erreicht ist, die der Pasteurisierungstemperatur angenähert ist, aber unter dieser liegt. Versuchsweise vorher bewirkte Infektion mit Bac. coli wurde durch die Bestrahlung völlig außer Wirkung gesetzt; die Organismenzahl von ca. 1 Million ging durch die Behandlung auf 100 Keime zurück.

Limbach (Leipzig).

Kersten, G. und Schultz, O. K., Verfahren zur Herstellung antirachitischer Milch. (D.R.P. Nr. 577 531, vom 1. 6. 1933.)

Die bisherigen Versuche, Frischmilch zwecks Verbesserung der antirachitischen Eigenschaften mit ultraviolettem Licht zu bestrahlen, führten zu keinem befriedigenden Ergebnis, weil die bestrahlte Milch Zersetzungen erleidet und dann einen so unangenehmen Geschmack aufweist, daß sie überhaupt nicht oder nur mit Widerwillen aufgenommen wird. Auf Grund umfangreicher Versuche wurde nun festgestellt, daß die Bildung unerwünschter Nebenprodukte bei der Bestrahlung der Milch durch die Anwesenheit der Eiweißstoffe u. dgl. veranlaßt wird, die für die antirachitische Wirkung ohne Bedeutung sind, daß aber die Bestrahlung des cholesterinhaltigen Milchfettes, durch die die antirachitische Wirkung verbessert wird, nicht zur Bildung unerwünschter Stoffe führt. Das vorliegende Verfahren beruht

auf der Verwertung dieser neuen Erkenntnis und besteht darin, daß die aus der Milch abgetrennten Fettbestandteile für sich der Bestrahlung mit ultraviolettem Licht unterworfen werden, bis ein Höchstwert der antirachitischen Eigenschaften erreicht ist, und sodann wieder mit den übrigen Milchbestandteilen vereinigt werden, so daß die neu zusammengesetzte einheitliche Milch ein Präparat von ungleich höherer antirachitischer Wirkung bildet. Limbach (Leipzig).

Marawin, L. N., Desinfektion von Korn und Malz in der Spiritusindustrie. 1934. S. 80. [Russisch.]

Verf. ist der Ansicht, daß es unmöglich sei, eine reine, von Mikroorganismen freie Maische durch Desinfektion des Kornes mit antiseptischen Mitteln zu erhalten, da sich auf dem sterilisierten Korn während der Keimung eine reiche Mikroflora entwickelt. Auf Grund von Untersuchungen im Institut der Spiritusindustrie kommt Verf. zum Schluß, daß die beste desinfizierende Wirkung durch Chlorieren des Malzes erreicht wird. Die Prüfung der Methode bei Betriebsbedingungen zeigte, daß bei 1000 mg Cl auf ein Liter 99,7% Mikroorganismen vernichtet werden. Das Chlorieren des Kornes bewirkt wohl starke Abnahme der Mikroorganismen, bald darauf tritt jedoch starke Vermehrung der Bakterien ein und der Bakteriengehalt des Malzes steigt sehr hoch. Die Methode ist jedoch infolge besserer Keimung, guter Waschung und Desodorierung des Kornes beim Chlorieren, bei Malzbereitung aus minderwertigem Korn zu empfehlen. Desinfektion des Malzes mit Formalin gibt ungenügende Ergebnisse. Sterilisation des Kornes durch Formalin kann erst bei Konzentrationen, die die Keimfähigkeit des Kornes zerstören, erlangt werden. Optimale Dosen für Desinfektion des Kornes mit Formalin sind 0,07—0,17%, im Verlauf von 6—18 Std. Durch Abwaschen des Kornes und Malzes mit warmem Wasser wird nur teilweise Desinfektion erreicht. Ebenso verhält es sich bei der Bearbeitung mit Schwefelsäure. Kalk in den üblichen Konzentrationen übt nur schwache Wirkung aus, und ist zudem unvorteilhaft, weil Temperaturerhöhung seine Wirkung abschwächt, wodurch seine Anwendung im Sommer erschwert wird. Durch Kalkwasser wird Abwaschung des Kornes und nur zum Teil Desinfektion erreicht. Es wird die zum Chlorieren des Malzes erforderliche Apparatur beschrieben. Eine Anweisung über Chlorieren des Kornes und des Malzes ist beigefügt. A. Imšenecki (Leningrad).

I.-G. Farbenindustrie A.-G., Haltbarmachen von Grünfutter. (D.R.P. Nr. 589362, vom 6. 12. 1933.)

Die konservierende Wirkung von Säuren wird erheblich erhöht, wenn man dem Grünfutter außer Säuren Salze der Milchsäure zusetzt, entweder so, daß man die Laktate in der Säurelösung auflöst und mit dieser Lösung das Grünfutter bespritzt, oder auch so, daß man die Laktate schichtweise zwischen einzelne Lagen des Grünfutters streut und dann die Masse mit saurer Lösung begießt. Das neue Verfahren bedeutet schon deshalb einen erheblichen Fortschritt auf dem Gebiete der Grünfutterkonservierung, da dem Vieh hierdurch gleichzeitig verschiedene Säureanionen zugeführt werden und eine Überfütterung mit einer einzelnen Säure vermieden wird. Verwendbar sind alle aus Laktaten Milchsäure freimachende Säuren, auch saure Salze dieser Säuren oder solche Stoffe, die beim Zusammenbringen mit Wasser Säuren bilden. Limbach (Leipzig).

Säure-Therapie Prof. Dr. v. Kapff G. m. b. H., Verfahren zum Haltbarmachen von Grünfutter. (D.R.P. Nr. 572 987, vom 25. 3. 1933.)

Zum Haltbarmachen von Grünfutter ist Chlorkalk vorzüglich verwendbar, wenn er durch Schwefelsäure oder deren saure oder neutrale Salze in neutralen schwefelsauren Kalk umgewandelt und gleichzeitig die unterchlorige Säure freigemacht oder an Natron gebunden wird. Am besten geschieht die Behandlung mit Chlorkalk in einem sauren Medium, wozu sowohl Schwefelsäure oder deren saure Salze, oder Salzsäure oder Mischungen von diesen gebraucht werden können. Für die praktische Anwendung kann man entweder Chlorkalk und Natriumsulfat oder Bisulfat einzeln oder in Mischung auf das Futter aufstreuen oder diese Mischung oder deren Komponenten in wässeriger Lösung aufgießen oder Chlorkalk aufstreuen und dann mit einer Lösung aus Schwefelsäure oder Bisulfat oder Salzsäure oder mit einer Mischung aus diesen begießen. Die neue Wirkung des Verfahrens geht aus der chemischen Umsetzung des Chlorkalkes mit Säuren oder sauren oder auch neutralen Salzen hervor. Bei Anwendung von Schwefelsäure oder Na-Bisulfat wird zunächst unterchlorige Säure frei gemacht, die bekanntlich die übrigen, sonst zur Futterkonservierung gebrauchten Säuren bezüglich desinfizierender Wirkung weit übertrifft, so daß davon zur Zerstörung der schädlichen Keime weit weniger gebraucht wird als von der seither meist angewendeten Salzsäure wie auch von der wesentlich teureren Ameisensäure. Die Verwendung eines trockenen Einstreupulvers ist praktischer und billiger. Limbach (Leipzig).

I.-G. Farbenindustrie A.-G., Verfahren zur sauerstofffreien Konservierung von Grünfutter. (D.R.P. Nr. 588 992, vom 30. 11. 1933.)

Das Verfahren beruht darauf, daß außer saurer Konservierungslösung, die durch Auflösen von Phosphorpentachlorid in Wasser hergestellt wird, feste kohlensäureliefernde Stoffe, z. B. Kalziumkarbonat, zugegeben werden, am besten am Boden des Silos. Durch die gebildete Kohlensäure wird im Silo eine sauerstofffreie Atmosphäre erzielt, und zwar sogleich zu Beginn des Säuerungsvorganges, so daß das Eintreten einer unerwünschten Buttersäuregärung verhindert wird. Es läßt sich neben anderen Karbonaten auch feste Kohlensäure anwenden. Die hierbei zuerst auftretende Temperaturerniedrigung schadet dem Futter nicht. Limbach (Leipzig).

Mikrobiologie des Düngers, Bodens, Wassers und Abwassers.

Janke, A., Sekera, F. und Szilvinyi, A., Mikrobiologische Bodenuntersuchungen im Lunzer Gebiet. I. Allgemeiner Teil: Ziel und Methodik der Untersuchungen. Standortsfaktoren und Keimgehalt. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 5. 1934. S. 223—245.)

Die untersuchten 7 kleinklimatischen Stationen im Lunzer Gebiet werden zunächst klimatologisch und bodenkundlich charakterisiert. Mikrobiologisch wurde untersucht auf Bakterien, Aktinomyzeten, Schimmelpilze, Sproßpilze mit dem Platten- und auf Nitrifikanten, Denitrifikanten, aerobe N-Binder, Amylobacter, Anaeroben mit dem Verdünnungsverfahren.

Ein Einfluß von Wasser- und Lufthaushalt des Bodens auf dessen Gehalt an Mikroorganismen konnte nicht festgestellt werden, vermutlich, weil die

Proben zur Zeit der Entnahme infolge des feuchten Klimas aller Stationen mit Wasser übersättigt waren. Auch konnte kein Zusammenhang zwischen einem Umweltfaktor (Klima oder physikalische Bodeneigenschaft) und Zahl oder Art der Mikroorganismen erkannt werden. Entweder wirken mehrere Faktoren zusammen oder es hat die Pflanzendecke einen überragenden Einfluß. So wiesen zwei in ihren Eigenschaften (einschl. Reaktion) ganz ähnliche Böden von gleicher klimatischer Umwelt bei Plattenzählung 13 891 bzw. 526 531 Gesamtmikroorganismen je 1 g trockenen Bodens auf. Ähnliche Unterschiede fanden sich bei den physiologischen Bakteriengruppen. Es handelt sich in dem einen Falle um Erica-Heide, im anderen um hochgrasige Wiese.

Der Quotient aus Keimzahl der Schimmelpilze und der der Bakterien + Aktinomyzeten (nach Jensen) ergab keine Korrelation zur Wasserstoffionenzahl.

Aerobe N-Binder konnten in saurem Waldboden (bis zu ph 4,7) nachgewiesen werden; sie fehlten aber oder traten sehr zurück, trotz günstiger ph-Werte, in anderen Stationen mit engem Ca/Mg-Verhältnis. Amylobacter (im Höchstfalle 1 054 250 je 1 g trockenen Bodens) wurde meist reichlicher gefunden als aerobe N-Binder (im Höchstfalle 48 955).

Die Kohlensäurebildung hängt nicht nur von dem Gehalt an Mikroorganismen ab, sondern wird auch durch die Adsorptionskraft der Böden bestimmt. Ist diese gering, so kann der Boden trotz verhältnismäßig niedriger Keimzahl ziemlich bedeutende Atmungswerte zeigen und umgekehrt. Ein Zusammenhang zwischen Kohlensäurebildung im Boden und Schimmelpilzentwicklung konnte nicht festgestellt werden. Rippel (Göttingen).

Janke, A. und Wozak, M., Mikrobiologische Bodenuntersuchungen im Lunzer Gebiet. II. Teil: Die Bakterienflora. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 5. 1934. S. 338—348.)

Die Arbeit bringt eine genaue Bakterienanalyse (aerobe kollektive Bakterienflora) der im vorstehenden Referat angedeuteten Standorte. Die gefundenen 37 Arten verteilen sich folgendermaßen: Streptococcus 1 Art mit 1 Stamm, Micrococcus 6 Arten mit 9 Stämmen, Sarcina 2 Arten mit 2 Stämmen, Bacillus 14 Arten mit 42 Stämmen, Pseudomonas 4 Arten mit 26 Stämmen, Bacterium 10 Arten mit 28 Stämmen. Allgemein verbreitet waren Bac. fusiformis, tumescens, Ps. fluorescens.

Für die quantitativen Angaben wurde der „Gemeinschaftsquotient“ gewählt, d. h. es wurde eine Station als Bezugsstation genommen und der prozentuale Anteil einer Familie, Gattung oder Art an der Gesamtkeimzahl für jede Station dividiert durch den prozentualen Anteil der gleichen Familie usw. der Bezugsstation. Es ergab sich dabei, daß die Bazillen (Sporenbildner) durch starke Schwankungen von Temperatur und Feuchtigkeit des Substrates begünstigt werden, die Bacteriaceen, namentlich die Pseudomonasarten, durch geringe Schwankungen der Feuchtigkeit und gleichmäßige Temperatur. Bei den Micrococcaceen war keine Gesetzmäßigkeit festzustellen; die Verff. glauben, daß es sich bei den Kokken um keine autochthone Flora handele, sondern diese aus der Luft in den Boden gelange. Die höchsten Stationen waren besonders arm daran.

Die H-Ionenkonzentration scheint, von den N-Bindern abgesehen, keinen besonders großen Einfluß auf die Bakterienflora auszuüben, eher

die Pufferung. Hohe Luftkapazität begünstigt die Nitrifikation im Gegensatz zur Denitrifikation. Die in 2 Fällen festgestellte geringe Zahl von Anaeroben in tieferen Bodenschichten dürfte durch Mangel an energetisch verwertbarer Substanz zu erklären sein.

Das „Dolomitphänomen", d. h. das Vorkommen einer hochalpinen Pflanzengesellschaft auf Dolomitboden einer Höhenstufe, die auf Kalkboden noch vorwiegend montane Vegetation trägt, dürfte durch die geringe Menge an leicht beweglichem Bodenwasser verursacht sein.

Rippel (Göttingen).

Verona, O., Studio microbiologico di un terreno torboso. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 5. 1934. 328—337.)

Es wurde ein oberitalienischer Moorboden aus dem Po-Tal mikrobiologisch untersucht. Die Keimzahl ist sehr niedrig; es handelt sich im wesentlichen um Pilze; eine Liste der gefundenen Mikroorganismen wird gegeben. Ammoniakbildungs- und Stickstoffbindungsvermögen sind gering, das Nitrifikationsvermögen ist fast Null. Denifritikations- und CO_2-Bildungsvermögen sind dagegen hoch. Rippel (Göttingen).

Sievers, O., Über die Empfindlichkeit einiger Abwasserbakterien gegen die Bakteriophagenwirkung. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 116. 1934. S. 15—27.)

Die Frage, ob die im Kloakenwasser immer nachweisbaren Bakteriophagen für die Wasserreinigung von Bedeutung sind, konnte durch die vorliegenden Untersuchungen noch nicht restlos geklärt werden. Im bejahenden Sinne können jedoch die folgenden Tatsachen ausgelegt werden: 1. Die Lysine sind nach der Reinigung des Wassers schwächer und gegen weniger Bakterien gerichtet; 2. es war eine gewisse Abnahme der lysosensiblen Bakterienstämme feststellbar. Rodenkirchen (Königsberg Pr.).

Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz im allgemeinen.

Morstatt, H., Über die Frage der Zunahme der Pflanzenkrankheiten. (Mitt. Biol. Reichsanstalt Land- u. Forstwirtsch. Heft 48. 1934 s. S. 63—72.)

Verf. stellt der Behauptung, die Pflanzenkrankheiten und die Schädlinge seien in ständiger Zunahme begriffen, die Tatsache gegenüber, daß die Ernten immer größer und sicherer geworden seien, und wendet sich auch gegen die Annahme, daß die Kulturpflanzen als Kulturprodukte eine „allgemeine innere Krankheitsanlage" hätten; nur eine stärkere Anfälligkeit derselben liege wohl vor, wenn sie in ungünstige Umweltverhältnisse kämen. „Wenn Kulturmaßnahmen in einseitiger Anwendung die Vermehrung von Schädlingen begünstigen, so werden wohl in den meisten Fällen eben Kulturfehler vorliegen, und es wird eine Ausnahme sein, daß eine Verbesserung der Kultur zugleich bessere Lebensbedingungen für bestimmte Schädlinge schafft. Auch beim Anbau auf großen einheitlichen Flächen könne nicht von einer allgemeinen Zunahme der Schäden etwa durch Rost oder Brand in den letzten 50 Jahren gesprochen werden. Das gleiche gelte von der Monokultur. Es sei unrichtig und eine Übertreibung, daß erst die menschliche Wirtschaft derartige Kalamitäten geschaffen habe. Verf. zitiert Literatur über die Waldwirtschaft, wonach schon vor langer Zeit der Wald von Katastrophen betroffen worden sei; daß sie in der Neuzeit häufiger seien, könne nicht bewiesen werden.

Eine allgemeine Zunahme der alteinheimischen Pflanzenkrankheiten

liege nicht vor. Aber eine zunehmende Menge von Krankheiten und Schädlingen werde durch den Verkehr eingeschleppt. Der Schaden sei fühlbarer geworden als früher, wofür verschiedene Gründe angeführt werden, darunter die enge Grenze der Rentabilität. Es dürfte richtig sein, sagt Verf., statt von einer Zunahme der Krankheiten von ihrer zunehmenden wirtschaftlichen Bedeutung zu sprechen. K. Friederichs.

Schädigungen der Pflanzen durch physikalische, chemische und physiologische Einflüsse.

Wieler, A., Durch Säuren und teerige Stoffe hervorgerufene Ätzschäden an Blattorganen. (Phytopath. Ztschr. Bd. 7. 1934. 121—144.)

Verf. berichtet zunächst über seine Erfahrungen mit der Einwirkung der hygrophilen Säuren Schwefelsäure und Salzsäure sowie des Chlors auf verschiedene Pflanzenarten, vornehmlich Koniferen. Die hervorgerufenen Ätzschäden werden beschrieben. Anschließend werden Schäden durch teerige Stoffe besprochen, die nach Ansicht des Verf.s ebenfalls unzweifelhaft Ätzschäden sind und in der Nachbarschaft von Kokereien, Kohlenstoffabriken, Teerdestillationen, Teerverarbeitungsfabriken, Braunkohlengeneratoren u. ä. zu erwarten sind. Es wird vermutet, daß die Phenole der schädliche Bestandteil sind. Besonderes Augenmerk ist auf die Ausheilung der Schäden durch die Pflanze gerichtet worden. Braun (Berlin-Dahlem).

Schweizer, J., Tjemara-ziekte bij tabak. [Tjemara-Krankheit beim Tabak.] (Mededeel. v. h. Besoekisch Proefstation. 1933. No. 50. p. 1—23, mit 9 photogr. Abb.)

Diese Krankheit, benannt nach dem von den Eingeborenen „Tjemara“ genannten Baume Casuarina equisetifolia wegen der Ähnlichkeit der kranken Blattgebilde mit dessen Blättern, äußert sich in einer Reduktion der Blattspreiten zu schmalen Streifen an den Hauptnerven. In schweren Fällen stehen die Streifen in Rosetten beisammen. Da die Blätter der befallenen Pflanzen völlig wertlos sind, waren eingehende Versuche über die Art der Krankheit und deren Bekämpfung angebracht. Diese Versuche ergaben, daß die Tjemara-Krankheit zu den physiologischen Krankheiten gerechnet werden muß und zwar ist die Ursache wahrscheinlich eine Vergiftung, worüber jedoch Näheres noch nicht ermittelt werden konnte. Die Bekämpfung dieser nicht ansteckenden Krankheit geschieht durch energische Durcharbeitung des Bodens und zweckmäßige Düngung.

van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und filtrierbare Vira.

Köhler, E., Untersuchungen über die Viruskrankheiten der Kartoffel. III. Weitere Versuche mit Viren aus der Mosaikgruppe. (Phytopath. Ztschr. Bd. 7. 1934. S. 1—30.)

Von Kartoffelpflanzen wurden 5 Mosaikviren isoliert, die sich bei weitgehender sonstiger Übereinstimmung bei der Weiterimpfung auf der türkischen Tabaksorte „Samsun“ konstant verschieden verhielten. Sie gehören offenbar zum gleichen Typus wie das X-Virus von K. M. Smith und die latent-Viren der Amerikaner, und sind wie diese als Varianten des gleichen Virus aufzufassen. Wegen ihrer Tendenz, auf den Tabakblättern chlorotische oder nekrotische Ringe hervorzurufen, werden sie als Ringelviren bezeichnet. Ihre Verschiedenheiten sind nachweislich nicht etwa durch Verunreinigung

mit gewissen schwachen anderen Viren bedingt, was offenbar ebenfalls sehr häufig vorkommt. Mit dreien von diesen Ringelviren wurden mit der Blatteinreibemethode Übertragungsversuche auf die Kartoffelsorten „Erdgold“ und „Wohltmann“ angestellt. Die Übertragung gelang in der Mehrzahl der Fälle. Die beiden Stämme M 23 und W 19 erwiesen sich bei der Rückübertragung auf den Tabak als gänzlich unverändert, während der Stamm R in beiden Kartoffelsorten völlig gleichsinnig eine deutliche Abschwächung erfahren hatte und sich auch weiterhin auf dem Tabak konstant vom Ausgangsstamm unterschied. Es konnte also die Entstehung einer Variante im Versuch beobachtet werden. Entsprechende Übertragungsversuche mit einem völlig andersartigen, früher von der Kartoffelsorte Wohltmann isolierten Virus vom Y-Typ (Smith) auf gesunde Pflanzen dieser Sorte gelangen in zwei von drei Fällen. Das Virus überstand die Passage völlig unverändert. Dagegen gelang die Übertragung auf „Erdgold“ (in 2 Fällen) nicht. — Es wurden außerdem zwei Viren isoliert, die am Samsuntabak eine leichte Nervenaufhellung verursachen und von denen das eine deutlich schwächer ist als das andere. Vermutlich sind sie als abgeschwächte Y-Viren aufzufassen. Endlich wurden noch von der Sorte „Erdgold“ drei von allen bisherigen verschiedene Viren E 8, E 9 und E 10 isoliert. Alle drei lassen sich auf den Samsuntabak mechanisch übertragen, sind aber auf dieser Pflanze latent. Die beiden Viren E 8 und E 9 sind auch auf „Erdgold“ latent. In Verbindung mit einem Ringelvirus verursachen sie an Erdgold „Kräuselmosaik“, am Tabak „Spot necrosis“-Symptome. E 9 verursacht auf Datura stramonium ein Gelbflecken-Mosaik, die beiden anderen nicht. E 10 ruft an Erdgold ein eigentümliches Dunkelmosaik hervor. — Der zweite Teil berichtet über Kombinationsversuche mit verschiedenen Viren der X- und Y-Gruppe. Die Versuche zeigen u. a., daß zusätzliche Infektionen mit einem Ringelvirus ergebnislos bleiben müssen, wenn die Pflanze bereits mit einem anderen Ringelvirus durchsetzt ist. Hingegen entwickeln sich an Pflanzen, die mit einem schwachen Y-Virus durchsetzt sind, nach zusätzlicher Beimpfung mit dem starken Y-Virus die Symptome dieses starken Virus. Das schwache Virus ist also in diesem Falle kein Hemmnis für die Ausbreitung des starken. Bei Kombination des starken Y-Virus mit einem Ringelvirus treten am Tabak stets die gleichen bösartigen Symptome auf, gleichgültig, ob das beteiligte Ringelvirus „stark“ oder „schwach“ ist. Junge, wachsende Pflanzen überwinden diese schwere Krankheit und entwickeln fast völlig gesunde Zuwachsteile, obgleich in diesen die beiden Viren noch in hoher Konzentration und ungeschwächter Virulenz enthalten sind. Die Pflanzen erwerben sich demnach einen hohen Grad von Toleranz. Aus den von solchen Pflanzen in der Toleranzzone gebildeten Samen entwickeln sich virusfreie Pflanzen, die diese Toleranz nicht mehr besitzen. In der Kombination X + Y ist für die Bösartigkeit der Symptome die Virulenz des beteiligten Y-Virus allein maßgebend. Autorreferat.

Doolittle, S. P., and Wellman, L. L., Commelina nudiflora, a monocotyledonous host of a celery mosaic in Florida. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 48—61, 3 figs.)

Während der letzten 4 Jahre verursacht eine Mosaikkrankheit des Selleries beträchtliche Verluste besonders in Florida, aber auch in anderen Staaten, in denen Sellerie gebaut wird. Die hier beobachtete Krankheit scheint sich von der durch andere beschriebenen insofern zu unterscheiden,

als die Krankheit sich zwar in einer bestimmten Kräuselung des Blattwerks und Verfärbung und Schrumpfung der Blattstiele äußert, daß aber die Mißbildung der Blättchen fehlt. Die Krankheit kann mechanisch aber auch durch Aphis gossypii verbreitet werden. Sie konnte auf Gurke, Tomate, Tabak und Physalis pubescens übertragen werden. Das Virus des Selleriemosaiks scheint nicht im Boden oder im Samen vorzukommen. Die Krankheit wurde allgemein auf Commelina nudiflora und einmal auf Physalis lagascae gefunden. Verff. nehmen an, daß die erste Infektion von Commelina aus erfolgte. Infolgedessen würde die Ausrottung dieser Pflanze in der Nähe von Feldern mit Sellerie eine wichtige Maßnahme zur Bekämpfung der Mosaikkrankheit des Selleries sein.
Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Atanasoff, D., Is bitter pit of apples a virus disease? (Phytopath. Ztschr. Bd. 7. 1934. p. 145.)

Eine rätselhafte Krankheit der Apfelbäume, Birnbäume und gelegentlich auch der Quitte ist seit vielen Jahren unter der Bezeichnung „Bitter pit" bekannt. Sie äußert sich an den Früchten durch eigentümliche oberflächliche Narben oder Schwellungen und durch Fleckenbildung im Fleisch. Sie ist nicht etwa auf Australien beschränkt, wo ihr Mc Alpine eingehende Untersuchungen gewidmet hat, sondern kommt nach den Erfahrungen des Verf.s in allen wichtigeren Obstbaugebieten der Welt vor und schädigt die Ernte empfindlich in quantitativer und qualitativer Hinsicht. Auf Grund eingehender Literaturstudien und eigener Beobachtungen gelangt der Verf. zu der Ansicht, daß es sich aller Wahrscheinlichkeit nach um eine oder mehrere verwandte Viruskrankheiten handle. Die bisher herrschende Auffassung, die in der Krankheit eine Folge ungünstiger ökologischer Situation erblickte, wird als unbefriedigend abgelehnt. E. Köhler (Berlin-Dahlem).

Tierische Schädlinge.

Womersley, H., A possible biological control of the clover springtail or lucerne flea (Sminthurus viridis L.) in Western Australia. (Journ. Coun. Sci. a. Ind. Res., Australia. Vol. 6. 1933. p. 83.)

Eine Spezies der Bdellid Made, Biscirus lapidarius Kramer, möglicherweise von Europa eingeführt, wurde in Böden, die mit Sminthurus viridis L. infiziert waren, gefunden. Untersuchungen, die über zwei Jahre durchgeführt wurden, haben gezeigt, daß diese Made ein aktiver Feind des Sminthurus ist, vermöge dessen seine Anzahl in kürzester Zeit stark reduziert werden kann. Überführungen in andere Gegenden sind teilweise glücklich ausgefallen, und diese wurden von Sminthurus gereinigt. Die künstliche Vermehrung der Made in der nötigen Menge scheint nicht möglich, daher ist ihre Überführung von Plätzen, wo die Maden in großer Anzahl vorzufinden sind, erforderlich. Die Spezies und ihre einzelnen Entwicklungsstadien werden beschrieben. E. Munch-Petersen (Sydney).

Zeck, E. H., Investigations on the Green Vegetable Bug (Nezara viridula Linn.). (The Agric. Gazette of N.-S.-Wales. Vol. 44. 1933. p. 591—594, 675—682, 2 Tafeln.)

Die grüne Gemüsewanze (Nezara viridula Linn.) ist ein weltverbreitetes Insekt, das zum ersten Male 1916 in Neu-Südwales in „County of Cumberland" als „Plage" verzeichnet wurde. Heute ist es über eine Fläche von 50 000 Quadratmeilen in Neu-Südwales verbreitet. Der Schädling tritt

auf an Bohnen und Tomaten. Die ersten Eier werden Mitte September gelegt von Weibchen, die als Imagines überwintert haben. Die Eiablage wird bis April fortgesetzt bei aufeinanderfolgenden Geschlechtsfolgen. Die Eier werden in Häufchen von durchschnittlich 57 Stück abgelegt; sie schlüpfen vom 5. bis 8. Tag. Ein Weibchen vermag bis zu vier Eihäufchen zu legen. Die Larven machen fünf Häutungsstadien durch. Der Zeitraum vom Ei bis zum Imago beträgt durchschnittlich 40 Tage, bei kürzester Entwicklungszeit 39 Tage, bei längster 81 Tage. Parasiten, die die Eier, Nymphen oder Imagines angreifen, sind bisher keine gefunden. Als Bekämpfungsmaßnahme wird Vernichtung der befallenen alten Bohnen- und Tomatenpflanzen, in welchen die Insekten sich vermehrten und überwinterten, empfohlen. Pyrethrumstaub oder Pyrethrumstaub mit gleichen Mengen 2½proz. Nikotinstaub vermischt, mag etwas Hilfe geben. Untersuchungen aber haben gezeigt, daß das Imaginalstadium nur mit größter Schwierigkeit durch Kontakt-Insektizide getötet werden kann. E. Munch-Petersen (Sydney).

Rawlins, W. A., Experimental studies on the Wheat Wireworm, Agriotes mancus Say. (Journ. econ. Ent. Vol. 27 2. 1934 4. p. 308—314.)

Drahtwürmer, insbesondere die Larven von Agriotes mancus, fressen im Staate New York durchschnittlich 19,7% der Kartoffelknollen an. Die Entwicklungsdauer des Käfers beträgt 3—5 Jahre; er ist im August des betr. Jahres fertig, verläßt aber die Puppenwiege erst im nächsten Frühjahr. Die übliche Fruchtfolge ist: Getreide, Klee und Timothee, Kartoffeln. Untersuchung der Altersklassen der Larven zeigte, daß zur Eiablage das Grünland bevorzugt wird und in den folgenden Jahren die Infektion nur wenig wächst; der Schaden tritt dann naturgemäß am stärksten an den Kartoffeln in Erscheinung, da 45% der Larven in dem betr. Jahre ihre Entwicklung vollenden; die genannte Fruchtfolge bietet ihnen ideale Lebensbedingungen. Bleibt der Boden zwei Jahre lang Grünland, so verstärkt sich die Infektion während des zweiten Jahres; gelangt er dagegen dauernd unter den Pflug, ohne Abwechslung mit Grünland, so vermindert sich die Anzahl der Drahtwürmer stark. — Die Untersuchung bringt einen neuen Gesichtspunkt in der Drahtwurmfrage und ist daher sehr bemerkenswert.

K. Friederichs.

Glasgow, H., Seed treatments for control of root maggots. (Journ. econom. Ent. Vol. 27 2. 1934 4. p. 303—308, 2 fig.)

Wenn die Kohlsaat angefeuchtet und mit viel Kalomel-Pulver vermischt wird, so daß dieses reichlich daran haftet, und dann ausgesät wird, so tritt an den Sämlingen viel geringerer Schaden durch die Maden der Kohlfliege ein als ohne solche Behandlung. Das Drillen muß flach erfolgen. Die Maden treten in Nord-Amerika so stark in den Saatbeeten auf, daß oft nahezu alle Pflanzen zerstört werden. Durch jene Behandlung kann erreicht werden, daß etwa 60% der Pflanzen von den Maden ganz verschont werden und der Rest bis auf einige Prozent nur schwach beschädigt wird. — Jene Behandlung der Saat schützt auch vor der Zwiebelfliege weitgehend, wenn sehr dicht gesät wird, wie es bei gewissen Zwiebelsorten zu geschehen pflegt. Durch die Behandlung der Saat mit Kalomel wird Verfärbung der Blattspitzen vermieden, wie sie als Folge der Behandlung junger Pflanzen damit oft eintritt. K. Friederichs.

Abgeschlossen am 3. Oktober 1934.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 91. No. 4/7.
Ausgegeben am 7. Dezember 1934.

Über die Rotte des Stalldüngers unter besonderer Berücksichtigung der Anaeroben-Flora[1]).

[Aus dem Institut für landwirtschaftliche Bakteriologie und Bodenkunde der Universität Leipzig.]

Von **Hans Glathe.**

Mit 8 Abbildungen im Text und 1 Tafel.

1. Die Biologie der Düngerrotte.

Eine Erhöhung der landwirtschaftlichen Erzeugung hat eine stärkere Beanspruchung des Nährstoffvorrates im Boden zur Folge. Das Streben des Landwirts muß infolgedessen dahin gehen, die unumgänglich notwendige Ausfuhr von Nährstoffen aus der Wirtschaft durch raschen und möglichst vollständigen Ersatz auszugleichen. Solange ihm genügend Betriebskapital zur Verfügung steht, ist ein ausreichender Ersatz an mineralischen Nährstoffen leicht zu schaffen. Diese Möglichkeit ist jedoch nicht mehr gegeben, sobald sinkende Preise zu einer Verknappung der Betriebsmittel führen. Eine befriedigende Ausnutzung der Nährstoffe durch die Pflanze ist nur möglich, wenn der Boden einen ausreichenden Humusgehalt aufweist. Der Humus kann jedoch im allgemeinen nicht gekauft werden, daher muß ein regelmäßiger Ersatz durch sorgfältige Ausnutzung aller Wirtschaftsdünger, die hierfür besonders geeignet sind, angestrebt werden. Auf diesem Wege lassen sich bedeutende Nährstoffmengen in den Stoffkreislauf des Wirtschaftsbetriebes einschalten, vor allem, wenn viele gegenwärtig noch immer als Abfälle betrachtete Stoffe berücksichtigt werden. Im Interesse des einzelnen Landwirts und der Ernährung des gesamten deutschen Volkes ist eine derartige umsichtige Behandlung des Bodenkapitals unbedingt zu fordern.

Zu den in der Wirtschaft selbst erzeugten Düngemitteln ist in erster Linie der Stalldung zu rechnen. Bei seiner Anwendung werden zwei verschiedene Wege eingeschlagen. Einmal wird der Stallmist sofort nach seiner Gewinnung auf den Acker gebracht und untergepflügt. Schon Thaer[2]) hatte indessen richtig erkannt, daß bei dieser Art der Anwendung keine befriedigenden Ernten erzielt werden können. Späterhin wurde nachgewiesen, daß auf diese Weise im Boden größere Mengen löslichen Stickstoffs in Eiweiß übergeführt und der Pflanze für längere Zeit entzogen werden.

Der zweite Weg besteht darin, den Stallmist vor dem Ausbringen auf der Düngerstätte zu lagern und während dieser Zeit durch eine „Rotte" in Dünger überzuführen. Dabei wird leider in den meisten Fällen so un-

[1]) Die Arbeit wurde als Habilitationsschrift von der mathematisch-naturwissenschaftlichen Abteilung der philosophischen Fakultät der Universität Leipzig angenommen.

[2]) Thaer, Möglinsche Annalen der Landwirtschaft. Bd. 11. 1823. S. 79—89.

sachgemäß verfahren, daß der Wirtschaft außerordentlich hohe Werte verlorengehen. Seit Jahrzehnten sucht man daher Wege zu finden, diese zu erhalten und möglichst vollständig auszunutzen. Doch litt ein großer Teil dieser Versuche an dem Mangel genügender Kenntnis der Bedingungen, unter denen die Verluste entstehen. Mit fortschreitender Entwicklung nicht nur der Chemie, sondern vor allem auch der Bakteriologie des Stalldüngers wurden die Grundlagen für die Erschließung neuer Möglichkeiten geschaffen.

Die Erkenntnis, daß die Düngerrotte von Mikroorganismen ausgelöst wird, war insofern von Bedeutung, als sie es ermöglichte, einzelne Umsetzungsvorgänge bewußt zu beeinflussen. Da der im Stalldünger enthaltene Stickstoff zugleich der wichtigste und teuerste Nährstoff ist, rückte die Frage des Eiweißabbaues in den Vordergrund des Interesses. Es wurde festgestellt, daß verschiedene Gruppen von Bakterien die Proteine bis zur Ammoniakstufe abbauen und daß die Stickstoffverluste in erster Linie auf das Entweichen kohlensauren Ammoniaks zurückzuführen sind. Hiltner[1]) suchte diesen Vorgang dadurch zu unterbinden, daß er den lagernden Dünger mit ammonassimilierenden Pilzen impfte, die das Ammoniak wieder in Eiweiß zurückverwandelten. Dadurch wurde der Stickstoff jedoch in einer Weise festgelegt, die nur eine außerordentlich langsame Verwertung desselben durch die höheren Pflanzen gestattete. Chr. Barthel[2]) versuchte ein Entweichen des Ammoniaks durch dessen Bindung an Säuren, insbesondere Milchsäure, zu verhindern. Zur Förderung der Säurebildung empfahl er eine Impfung mit Milchsäurebakterien, während M. Gerlach das gleiche Ziel durch Zuckerzusatz erreichte[3]).

Die Rotte hat weiterhin den Zweck, die Streuteile so weit zu mürben, daß sie im Boden leicht aufgeschlossen werden können und keine Stickstofffestlegung bewirken. Dieser Prozeß sollte durch eine Impfung des Düngers mit zellulosezersetzenden Bakterien[4]) gefördert werden.

Bei den bisher gestreiften Methoden handelte es sich darum, durch Förderung bestimmter Gruppen von Organismen bzw. durch Zuführung neuer Arten die Gärung in bestimmte Bahnen zu leiten, man kann in diesen Fällen von einer fördernden Beeinflussung bestimmter Rottungsvorgänge sprechen. Demgegenüber verfolgt die Edelmistbereitung das Ziel, die Mehrzahl der Mikroorganismen durch Pasteurisation auszuschalten.

H. Krantz, der das Verfahren[5]) ausarbeitete und einführte, nutzte zu diesem Zweck die „Selbsterhitzung“ aus, die in lagerndem Dünger auf jeder beliebigen Düngerstätte mehr oder weniger intensiv einzusetzen pflegt. Die Höhe der Temperatursteigerung hängt im wesentlichen von folgenden Bedingungen ab:

---

[1]) Hiltner, Deutsche landw. Presse. Bd. 28. 1901. S. 232.

[2]) Chr. Barthel, Deutsche landw. Presse. Bd. 33. 1906. S. 212. Chr. Barthel und S. Rhodin, Deutsche landw. Presse. Bd. 39. 1912. S. 583, 597. G. Horn, Beiträge zur Kenntnis der rationellen Verwertung des Stalldungers. Diss. phil. Leipzig. 1929. S. 18.

[3]) M. Gerlach, Ill. landw. Ztg. Jahrg. 35. 1915. S. 449. N. Craig, Mauritius Dept. Agr. Gen. Ser. Bull. 38. 1927, ref. Exp. Stat. Rec. Vol. 60. p. 120.

[4]) G. Horn, Beiträge zur Kenntnis der rationellen Verw. des Stalldüngers. Diss. phil. Leipzig 1929. S. 13. (Impfung mit Sperkit, vgl. hierzu DRP. 439 390.)

[5]) DRP. 386 312, 388 338 u. a. Vgl. auch H. Krantz, Binnenversorgung durch Bodenkraftmehrung. Augsburg-Stuttgart (Filser) 1924. Ferner Zusammenstellung der Literatur in G. Ruschmann, Biederm. Zentralbl. Bd. A 60. N. F. 1. 1931. S. 177—199 und Löhnis-Ruschmann, Handb. d. landw. Bakteriologie. 2. Aufl. 1933. Teil III.

1. Das zu vergärende Material muß einen Wassergehalt von rund 75% haben,

2. für ausreichende Sauerstoffzufuhr muß gesorgt sein und

3. das Gärgut muß genügend leicht aufnehmbaren Stickstoff enthalten.

Die erste Bedingung läßt sich in der landwirtschaftlichen Praxis durch Mischung trockenen und nassen Düngers leicht erfüllen. Der Sauerstoffbedarf der Mikroorganismen kann ohne Schwierigkeiten gedeckt werden, wenn der frische Dünger locker aufgeschichtet wird. Die dritte Forderung aber ist von vornherein erfüllt, wenn es sich um tierischen Dünger handelt; sie kann Schwierigkeiten bereiten bei der Vergärung von Stroh und sonstigen Wirtschaftsabfällen.

Die für die Einleitung der Heißvergärung vorgeschriebene lockere Stapelung des Stallmistes bewirkt eine intensive Vermehrung der aeroben Organismen, die dabei so große Wärmemengen erzeugen, daß der Block innerhalb weniger Tage, ja mitunter Stunden eine Temperatur von 60° C erreicht. Da die für die Existenz der einzelnen Arten optimalen Temperaturen keineswegs auf gleicher Höhe liegen, ist anzunehmen, daß während der Erwärmung bereits eine Umschichtung der Flora in der Weise eintritt, daß Organismen mit niedrigerer Optimaltemperatur zugrunde gehen, bevor die Temperatur von 60° C erreicht ist. G. Ruschmann[1]) bezeichnet diesen Abschnitt der Gärung als aerobe Phase.

Sobald die Erhitzung so weit vorgeschritten ist, wird durch intensive Pressung den sauerstoffbedürftigen Organismen die Existenzmöglichkeit genommen, die Luft wird so gut wie restlos aus dem Block entfernt. G. Ruschmann gelangt auf Grund seiner Versuche zu dem Ergebnis, daß während dieser anaeroben Phase die Tätigkeit der Mikroorganismen überhaupt zum Stillstand kommt und nur noch chemische Prozesse vor sich gehen. Diesen Abschnitt bezeichnet er daher auch als chemische Phase.

Obwohl die Behandlung des Stalldungs auf diese Weise einheitlich geregelt ist, kann doch nicht in allen Fällen ein gleichartiges Gärprodukt erwartet werden, weil das Ausgangsmaterial in seiner Zusammensetzung außerordentlich großen Schwankungen unterworfen ist. Auch die Menge des jeweils zu vergärenden Stalldungs ist dabei von Bedeutung, da ein großer Stapel die Wärme langsamer nach außen abgibt als ein solcher von kleinem Ausmaß. Dazu kommen schließlich eine Reihe von Einflüssen der Umwelt, die sich der Kontrolle gänzlich entziehen.

Beim Vergleich verschiedener Lagerungsmethoden wird in der Regel der kombinierte Lagerungs- und Feldversuch zugrunde gelegt. Die Zahl der unbekannten Faktoren, die der Dünger bereits in sich schließt, wird auf diese Weise durch die des Bodens nicht unbeträchtlich vermehrt. Die Höhe des Pflanzenertrages aber läßt nur ein Urteil über den Düngerwert des Gärproduktes zu, gibt jedoch keine Erklärung für seine mehr oder weniger günstige Wirkung, die durch den Verlauf der Gärung wesentlich beeinflußt wird. Zur Klärung solcher Fragen ist es unbedingt nötig, die Veränderungen, denen der Dünger während der Lagerung unterliegt, zu berücksichtigen. Diese „Rotte" besteht aus mehreren meist ineinandergreifenden Vorgängen, deren Studium daher außerordentliche Schwierigkeiten bereitet. Aus Einzel-

[1]) G. Ruschmann, Zuckerrübenbau. Bd. 10. 1928. S. 111. Ergebnisse der Agrik.-Chemie. Bd. 1. 1929. S. 132. Vgl. auch G. Horn, Beiträge zur Kenntnis der rationellen Verwertung des Stalldüngers. Diss. phil. Leipzig 1929.

ergebnissen, die bei der Untersuchung verschiedener bei Beendigung der Lagerung entnommener Proben gewonnen wurden, konnte geschlossen werden, daß die Rotte im wesentlichen aus drei verschiedenen Teilprozessen besteht, nämlich aus:

1. der Kohlehydratzersetzung,
2. dem Eiweißabbau und
3. der Humusbildung.

Diese Vorgänge werden von den jeweils herrschenden Temperaturen sehr stark beeinflußt, sie müssen daher besonders bei Vergleich heiß- und kaltvergorener Düngerarten deutlich in Erscheinung treten. Im allgemeinen werden sie je nach der Sorgfalt der Lagerung durch aerobe Bakterien bzw. durch ein Zusammenwirken aerober und anaerober Organismen ausgelöst. Bei festgelagertem Stalldünger wird man den anaerob verlaufenden Vorgängen größere Aufmerksamkeit zuwenden müssen.

Durch die vorliegenden Untersuchungen sollte in erster Linie festgestellt werden, in welchem Umfang obligat anaerobe Bakterien an dem Rotteverlauf beteiligt sind. Daneben sollten einige Unterlagen über das Verhalten der aeroben Flora Aufschluß geben. Solche Versuche haben jedoch nur bedingten Wert, solange über einen augenblicklichen Zustand und nicht über den Verlauf des Rottevorganges und die ihn bedingenden verwickelten Veränderungen Klarheit geschaffen wird. Aus diesem Grunde wurden die heiß- bzw. kaltvergorenen Düngerstapel 10 Monate lang gelagert und jeweils nach 2—3 Monaten zur Untersuchung herangezogen.

Bei den Versuchen über die Bedeutung der Heißvergärung des Stalldüngers wurden häufig Temperaturen registriert, die über die in der Vorschrift bei 65° C festgelegte Grenze hinausgingen. Es war nun von Bedeutung, zu untersuchen, welchen Einfluß Temperaturen über 65° C auf die Rotte des Düngers ausüben.

2. Experimenteller Teil.

a) Methodik der Untersuchungen.

Der bei den Versuchen benutzte Stalldünger wurde von der Universitätslehrwirtschaft des Instituts für landwirtschaftliche Betriebslehre, Rittergut Cunnersdorf, und von der Versuchswirtschaft Probstheida des Instituts für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung entgegenkommenderweise zur Verfügung gestellt. In Cunnersdorf wurde der von 36 Milchkühen stammende Stalldünger abwechselnd in der offenen Gärstatt heiß und in größerem Stapel unter Aufwendung größtmöglicher Sorgfalt kalt vergoren. Das tägliche Düngerquantum betrug etwa 14 dz. Jeder Stapel wurde 15mal beschickt, so daß die insgesamt verarbeitete Düngermenge sich auf 201,7 dz belief.

In Probstheida stand der Dünger von 6 Maststieren zur Verfügung und wurde in einer bedachten Gärstatt der Heißvergärung unterworfen. Die Ausmaße der beiden Gärstätten in Probstheida und Cunnersdorf sind die gleichen.

Der während der Gärung beobachtete Temperaturverlauf ist aus der graphischen Darstellung 1 (S. 82) zu ersehen. In der Gärstatt Probstheida wurde der Dünger erst festgetreten, wenn eine Temperatur von 70° C erreicht war. Die gute Wärmekonservierung der Gärstatt führte dazu, daß die Temperatur sich sehr lange zwischen 60 und 70° C hielt.

Die Mürbung des Stallmistes konnte während der Untersuchungen sehr gut verfolgt werden, beim Heißmist schritt sie rascher vorwärts als

beim Kaltmist. Der in Probstheida erzeugte Heißmist war kaum gerottet, war von dunkelbrauner Farbe und wies einen leicht säuerlichen Geruch auf.

Die Daten der jeweiligen Probenahme sind in Tabelle 1 verzeichnet. Es wurde streng darauf geachtet, daß nicht zwei Proben an derselben Stelle entnommen wurden, da diese bei der erstmaligen Probenahme von außen hätten infiziert worden sein können. Die Proben hatten in allen Fällen unberührt seit der Stapelung gelegen.

Um Unterlagen über die Bedeutung anaerober Bakterien für die Rotte des Stalldüngers zu gewinnen, mußte zunächst festgestellt werden, welche Arten im lagernden Dünger überhaupt vorkommen und in welcher Menge sie auftreten. Da ihre Züchtung auf Platten besondere Schwierigkeiten bereitet, mußten vor der Isolierung der einzelnen Gruppen zunächst Anreicherungskulturen eingeschaltet werden. Für einen zahlenmäßigen Nachweis blieb nur der Weg offen, Verdünnungen des zu untersuchenden Materials herzustellen, diese quantitativ in die Anreicherungsnährböden zu übertragen und die Zahl der anwesenden Organismen nach der Höhe der Verdünnung, aus der sie isoliert werden konnten, zu schätzen. Im einzelnen wurde so vorgegangen, daß jeweils 100 g Dünger mit 1000 ccm Leitungswasser aufgeschwemmt und davon je 10 ccm in geeichten, sterilen Gefäßen mit sterilem Wasser auf 100 ccm aufgefüllt wurden.

Da unter den anaeroben Bakterien Gruppen vorkommen, die hauptsächlich Kohlehydrate angreifen, und andere, die vorwiegend Eiweiß abbauen, wurden entsprechende Nährböden, die sich in Vorversuchen bereits bewährt hatten[1]), verwendet. Die einzelnen Medien sind aus folgender Aufstellung ersichtlich:

1. Für Kohlehydrat- und Eiweißzersetzer: Leberbouillon;
2. für Kohlehydratzersetzer:
   a) Ruschmanns Kartoffelbrei[2]),
   b) Winogradskys mineralische stickstofffreie Zuckerlösung[3]);
3. für Eiweißzersetzer: Rettgers Eier-Fleisch-Nährboden[4]);
4. für anspruchsvolle Arten wie B. cochlearius: Zeißlers verdaute Leberbouillon[5]);
5. für Zellulosezersetzer: Omelianskis mineralische Lösung mit Ammoniumsulfat und Filtrierpapier[6]).

Alle Kulturen wurden in den von McIntosh und Fildes[7]) für die Züchtung anaerober Bakterien empfohlenen Gefäßen bei 37° C in der Wasserstoff-Atmosphäre bebrütet. Das Prinzip dieser Methode besteht darin, im luftdicht verschlossenen Gefäß unter ½stünd. Zuführung von Wasserstoff in einer elektrisch geheizten und gegen Ausstrahlung geschützten Spirale

---

[1]) H. Glathe and A. Cunningham, Journ. Agr. Science. Vol. 23. 1933. 4, p. 541—554.

[2]) G. Ruschmann, Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 75. 1928. S. 409.

[3]) Winogradsky, Arch. des scienc. biol. publ. par l'Inst. imp. de méd. exp. St. Pétersbourg. T. 3. 1897. p. 297; Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 9. 1902. S. 49.

[4]) L. F. Rettger, Journ. Biol. Chem. Vol. 2. 1906. p. 75.

[5]) J. Zeißler und L. Raßfeld, Die anaerobe Sporenflora der europäischen Kriegsschauplätze 1917. Jena 1928. S. 19.

[6]) Omelianski, Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 8. 1902. S. 226.

[7]) J. McIntosh and P. Fildes, Med. Res. Comm. Spec. Rep. Ser. London, H. M. Stat. Office. Nr. 12. 1917. p. 66. Brit. Journ. Exp. Path. Vol. 2. 1921. p. 153.

die Reste von Sauerstoff bei einer Temperatur von etwa 250° C zu Wasser zu oxydieren.

Im hängenden Tropfen und in mit verdünntem Fuchsin gefärbten Ausstrichpräparaten wurde das Wachstum mikroskopisch verfolgt. Nachdem Versporung eingetreten war, wurden 1—2 ccm der bakterienhaltigen Nährflüssigkeit in ein neues Röhrchen des gleichen Nährbodens übertragen und pasteurisiert. Die Intervalle der Erhitzung waren etwa die gleichen, wie sie Zeißler bei seinen Untersuchungen angewendet hat, im allgemeinen wurden Erhitzungen, wie sie nachstehend verzeichnet sind, durchgeführt:

20′ 80° C
3′ 100° „
10′ 100° „
30′ 100° „
90′ 100° „

Es muß jedoch betont werden, daß die Pasteurisation nicht als starres System zur Anwendung gelangte, sondern daß die Temperaturen oft je nach dem speziellen Falle festgesetzt wurden. Mitunter wurden auch die gleichen Temperaturen wiederholt angewendet, zumal, wenn Subkultur oder Platte kein Wachstum zeigten.

Abb. 1. Untersuchung einer Originalkultur.

135/3 (Eier-Fleisch-Nährboden, nicht pasteurisiert)

Zeichenerklärung: E = Eier-Fleisch-Nährboden, L = Leberbouillon, K = Kartoffel, bei Milch koaguliert, 0 = nicht verändert, H = Hämolyse, + = vergoren, ⊥ = kein Wachstum, ⊕ = nicht weitergeführt, da der Organismus bereits vorhanden war.

Die Isolierung der einzelnen Stämme erfolgte mit Hilfe von Plattenkulturen, und zwar auf Fleischextrakt-Agar mit einem Zusatz von 0,5% Traubenzucker. Von der Subkultur wurden zunächst einige Tropfen Material in ein Reagenzglas mit 1—2 ccm sterilem Wasser übertragen und hierin pasteurisiert. Auf diese Weise sollte verhindert werden, daß die in der Subkultur gebildeten Säuren bzw. Alkalien bei der Pasteurisierungs-Temperatur von 80° C schädigend auf die Entwicklungsfreudigkeit der Organismen einwirkten. Die Kolonien wurden nach 2 tägiger Bebrütung abgestochen und in flüssigem Nährboden weitergezüchtet. Die Stämme konnten im allgemeinen als Reinkulturen betrachtet werden, wenn sie bei 3 maliger Plattenpassage übereinstimmende Merkmale gezeigt hatten.

Die Identifikation der Stämme erfolgte auf Grund der Reaktionen in Agarstich, Gelatine, Milch, Glukose-, Maltose- und Laktose-Nährlösung. Ferner wurden die Reinkulturen mindestens einmal auf der von Zeißler[1]) empfohlenen Traubenzuckerblut-Agarplatte gezüchtet. Auf die exakte Bestimmung der Arten wurde besonderer Wert gelegt, da nur dann ihre Bedeutung für die Stalldüngerrotte gewürdigt werden kann. Als Beispiel für den Gang der Untersuchung seien die bei einer Originalkultur des Frischmistes Probstheida erzielten Resultate in Abbildung 1 wiedergegeben.

Da die hohen Temperaturen des lagernden Düngers das Auftreten thermophil-anaerober Organismen wahrscheinlich machten, wurden einzelne Versuche bei einer Temperatur von 57° C durchgeführt.

Außerdem war es wichtig, nachzuweisen, ob Schwankungen, die im Gehalt des Düngers an anaeroben Keimen auftraten, auch bei anderen Organismengruppen zu beobachten waren, um dabei festzustellen, ob diese oder jene Organismengruppe für bestimmte Veränderungen des lagernden Düngers verantwortlich zu machen sei. Unter Benutzung der gleichen Verdünnungen wurde festgestellt:

1. die Gesamtzahl aerob wachsender Keime,
2. die Zahl der Sporen aerober Bazillen,
3. die Zahl der Organismen der Coli-Gruppe,
4. die Zahl der unter anaeroben Bedingungen auf Platten wachsenden Organismen,
5. die Zahl der bei 57° C zur Entwicklung kommenden Arten.

Zu den aeroben Plattenkulturen wurde Stalldung-Agar[2]) verwendet. Die Bestimmung der Sporenzahl erfolgte in gleicher Weise, nur wurden die Verdünnungen vor der Beschickung der Platten 20 Min. bei 80° C pasteurisiert.

Die Coli-Bakterien wurden in McConkey-Bouillon[3]) und gleichzeitig auf Bromthymolblau-Agar mit Trypaflavinzusatz[4]) gezüchtet. Die für die Zählung thermophiler bzw. thermotoleranter Organismen vor-

---

[1]) J. Zeißler, Anaerobenzüchtung. (Handb. d. path. Mikroorganismen von Kolle, Kraus und Uhlenhuth, 3. Aufl. 1930. Bd. 10. S. 70.)

[2]) Der Nährboden wurde folgendermaßen bereitet: 500 g nicht zu stark gerotteten Stalldüngers wurden mit 1500 ccm Wasser im Autoklaven auf 1½ Atmosphären Überdruck erhitzt und filtriert. Die Filtration dauerte meist 2 Tage. Ein klares Filtrat zu erhalten ist weder möglich noch erforderlich, da nach dem Zusatz des Agars eine erneute Filtration ohnehin notwendig wird. Das Filtrat wurde auf 1500 ccm aufgefüllt und mit 0,05% K_2HPO_4 und 0,5% Glukose versetzt.

[3]) A. McConkey, Journ. of Hygiene. Vol. 6. 1906. p. 385—407.

[4]) M. Klimmer, H. Haupt und F. Borchers, Milchwirtschaftliche Forschungen. Bd. 9. 1929. 1/2, S. 236—248.

gesehenen Platten wurden, um deren rasches Austrocknen zu verhindern, in einem Gefäß mit Wasserverschluß bebrutet, dessen Bauart aus Abb. 2 ersichtlich ist.

b) Identifikation der isolierten Stämme anaerober Bakterien.

Da aus den 3 Stapeln im wesentlichen dieselben Organismen isoliert wurden, soll deren Besprechung gemeinsam erfolgen.

B. putrificus verrucosus Zeißler.

Morphologie. Der Organismus wächst rasch und ist lebhaft beweglich. Die kurzen kräftigen Stäbchen mit den ovalen, den Zelleib stark auftreibenden, fast endständigen Sporen sind hinreichend bekannt, so daß sich eine ausführliche Beschreibung erübrigt[1].

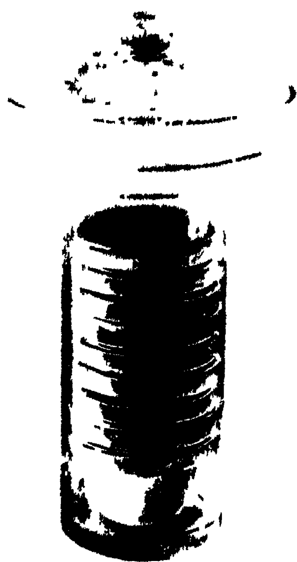


Abb. 2. Gefäß zur Bebrutung von Plattenkulturen thermophiler Organismen.

Die Leberbouillon wird rasch und stark getrübt, Gas wird gebildet, charakteristisch sind vor allem Gestank, Schwärzung und eine später einsetzende Rotung der Leberstuckchen.

Auf Traubenzucker-Agar sind mehrere Kolonieformen zu beobachten, und zwar

1. eine gelbliche, stark erhabene Kolonie, die von einem flachen, feinen Haarkranz umgeben ist;
2. eine stark erhabene, gelbliche, wurzelförmige Ausläufer bildende Kolonie;
3. eine unregelmäßige, flache Kolonie, die mitunter als zarter Rasen die Agaroberfläche überzieht.

Die Kolonieform 3 wurde auch von McIntosh und Fildes[2]) beobachtet, dem Organismus wurde später der Name B. parasporogenes beigegeben[3]).

Auf der Blutplatte wurde deutliche Hämolyse beobachtet.

Im Glukose-Agarstich ist längs des Stichkanals ein intensives Wachstum zu beobachten, einzelne Gasblasen treten auf, zu Zerreißungen des Mediums kommt es indessen selten.

Physiologie. Die Gelatine wird teils bereits nach 2 Tagen, teils erst nach 8—10 Tagen verflüssigt, die Milch wird zunächst koaguliert, später verdaut. Glukose und Maltose werden rasch vergoren, bei Laktose waren die Ergebnisse nicht ganz übereinstimmend insofern, als von den 62 isolierten Stämmen 2 sehr geringe Gasbildung zeigten. Soweit Glukose und Maltose berücksichtigt werden, wurden die früheren Ergebnisse[4]) bestätigt,

[1]) Vgl. Taf. I, Abb. 1.

[2]) J. McIntosh, and P. Fildes, Med. Res. Comm. Spec. Rep. Ser. No. 12. London 1917. p. 36.

[3]) J. McIntosh, and P. Fildes, Med. Res. Comm. Spec. Rep. Ser. No. 39. London 1919. p. 39.

[4]) H. Glathe, and A. Cunningham, Journ. Agr. Sci. Vol. 23. 1933. 4, p. 546.

sie stehen im Widerspruch zu den von Zeißler und Raßfeld[1]) erlangten Befunden, stimmen jedoch mit den Angaben des Medical Research Committee[2]) uberein. Ein Unterschied zwischen den hier isolierten Stämmen und einem zum Vergleich herangezogenen, von J. Zeißler isolierten B. putrificus verrucosus[3]) konnte nicht festgestellt werden.

Einer besonderen Wuchsform des B. putrificus verrucosus ist noch zu gedenken, die gewissermaßen die Verbindung mit B. putrificus tenuis darstellt. Sie wurde in 8 Fällen beobachtet und stimmt in physiologischer Hinsicht vollig mit dem ersteren überein, unterscheidet sich jedoch von diesem in morphologischer Hinsicht durch die Bildung langer Ketten in flüssigen Nährmedien[4]). In einzelnen Fällen wurde anfangs reichliche Kettenbildung beobachtet, die jedoch bei längerer Fortzüchtung verloren ging. In den Tabellen wurde dieser Organismus der Gruppe des B. putrificus verrucosus Zeißler beigeordnet.

B. putrificus Bienstock.

Drei Stämme wurden isoliert, die zunächst dem B. putrificus verrucosus Zeißler vollig glichen. Auf Traubenzucker-Agar bildeten sie unregelmäßige, häufig gezähnte Kolonien, aber der fur letzteren charakteristische Haarkranz wurde in keinem Falle beobachtet. Die Stämme vergoren die geprüften Zuckerarten nicht, sie koagulierten die Milch zunächst, verdauten sie aber nur sehr langsam. In physiologischer Hinsicht entsprechen sie zwar der von J. Zeißler[5]) für B. putrificus verrucosus gegebenen Beschreibung, sie bildeten kein Gas, aber in Leberbouillon trat keine Schwärzung ein. Sie glichen völlig dem von A. Cunningham[6]) als Form B 4a beschriebenen Organismus[7]), der wegen der Übereinstimmung mit den Angaben von Bienstock[8]) später als B. putrificus Bienstock bezeichnet wird[9]).

B. putrificus tenuis.

Morphologie. Das Charakteristikum des B. putrificus tenuis sind lange Ketten, die häufig über das ganze Gesichtsfeld reichen[10]). Die einzelnen Stäbchen sind kräftiger als die des B. putrificus verrucosus Zeißler, ihre Größe wurde wiederholt mit etwa 1—1,5 × 5—10 μ gemessen. Bei dem im Laufe dieser Untersuchung isolierten Stamm konnte im Dunkelfeld keine Beweglichkeit festgestellt werden.

Die Sporenbildung verläuft langsamer als bei B. putrificus verrucosus Zeißler, nach 2 Tagen sind einzelne sporentragende Stäbchen zu beobachten, im allgemeinen sind die langen Ketten noch sporenfrei. Erst

[1]) J. Zeißler und L. Raßfeld, Die anaerobe Sporenflora der europ. Kriegsschauplatze. 1917. Jena 1928.

[2]) Med. Res. Comm. Spec. Rep. Ser. No. 39. 1919. p. 36.

[3]) Eine Subkultur wurde von Herrn Privatdozent Dr. Moyn freundlicherweise zur Verfugung gestellt.

[4]) Vgl. Taf. I, Abb. 2.

[5]) J. Zeißler, Anaerobenzuchtung, in Kolle, Kraus, Uhlenhuth, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. 10. 1930. S. 116.

[6]) A. Cunningham, Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 83. 1931. S. 11.

[7]) Zum Vergleich wurde eine entsprechende Kultur in entgegenkommender Weise von Herrn Dr. Cunningham zur Verfugung gestellt.

[8]) Bienstock, Ann. Inst. Pasteur. T. 20. 1906. p. 407—415.

[9]) A. Cunningham, Journ. Bact. Vol. 31. 1932. 1, p. 61—70.

[10]) Vgl. Taf. I, Abb. 3.

nach einigen Tagen sind längere Ketten völlig versporter Stäbchen sichtbar, sie erinnern an Subtilis-Ketten. Die Sporen sind oval und zumeist zentral gelagert, nur in einzelnen Fällen rücken sie näher an das Ende des Stäbchens heran. Im Gegensatz zu B. putrificus verrucosus werden die Stäbchen durch die Sporen nicht aufgetrieben.

Die Leberbouillon wird getrübt, häufig tritt eine Sedimentation ein, so daß die überstehende Flüssigkeit wieder klar erscheint. Einzelne Gasblasen treten auf, langsame Schwärzung wurde beobachtet.

Auf Glukose-Agar bildet der Organismus teils runde, teils unregelmäßige, erhabene, graue Kolonien. Der feine Haarkranz der verrucosus-Kolonien tritt nicht auf. Hämolyse wurde beobachtet.

Im Glukose-Agarstich ist das Wachstum schwer von dem des B. putrificus verrucosus zu unterscheiden.

Physiologie. Die Milch wird koaguliert und verdaut, Gelatine verflüssigt. Von den Zuckern werden Glukose und Maltose vergoren, Laktose dagegen nicht. Die Tatsache, daß der Organismus Zucker und Eiweiß anzugreifen vermag, unterscheidet ihn also vom B. putrificus verrucosus nicht, der eigentliche Grund für die in der englischen Literatur übliche Bezeichnung B. bifermentans ist also hinfällig. Der Stamm stimmte mit 2 Stämmen des B. bifermentans Tissier und Martelly[1]) überein.

B. cochlearius.

Morphologie. Das außerordentlich langsame Wachstum des B. cochlearius erschwert seine Auffindung und Isolierung sehr. Zunächst erscheinen einige wenige schlanke Stäbchen, teils einzeln, teils kurze Fäden bildend. Nach einigen Tagen werden diese länger und zarter, schließlich bilden sie an den Enden zunächst Verdickungen, bis nach etwa 8—9 Tagen runde endständige Sporen zu beobachten sind[2]). Die vegetativen Formen nehmen die Farbstoffe nur schlecht an, die Sporen sind in der ersten Zeit völlig gefärbt, erst später, nach erfolgter Reife, bleiben sie farblos. Die Hitzeresistenz der Sporen ist groß. Ein Stamm wurde aus einer 30′ 100° erhitzten Subkultur isoliert.

Die Reinzüchtung des Organismus gelang aus Rettgers Eier-Fleischnährboden. In gewöhnlicher Leberbouillon wächst er sehr langsam, nach langer Bebrütung (mehr als 30 Tage) tritt eine geringe Schwärzung und schwache Verdauung ein, etwas besser ist das Wachstum in verdauter Leberbouillon.

Auf der Glukose-Agarplatte erschienen nach 8 tägiger Bebrütung zarte, graue Kolonien mit schlingenartiger Zeichnung[3]). Auf der Blutplatte wurde keine Hämolyse beobachtet.

Physiologie. Die 3 isolierten Stämme zeigten in Milch nach 16 Tagen keine Veränderung. In Glukose, Maltose und Laktose war nach 14 Tagen schwaches Wachstum, aber keine Vergärung festzustellen. Eine Verflüssigung der Gelatine konnte nach 14 Tagen nicht beobachtet werden.

[1]) Kulturen Nr. 506 und 2914 der National Collection of Type Cultures, Lister Institute, London.
[2]) Vgl. Taf. I, Abb. 4.
[3]) Vgl. Taf. I, Abb. 5.

B. saccharobutyricus v. Klecki.

Morphologie. Die vegetativen Formen des B. saccharobutyricus v. Klecki sind etwas kräftiger als die des B. putrificus verrucosus und stets lebhaft beweglich. Sie bilden mittel- bis endständige Sporen[1]), häufig sind Spindelformen zu beobachten. Die reifen Sporen sind gegen Austrocknung sehr resistent und bleiben in völlig trockner Erde lange Zeit lebensfähig[2]).

In Leberbouillon ist regelmäßig starke Gasbildung zu beobachten, die Flüssigkeit wird rasch getrübt, die Organismen sinken später als grauweißer Niederschlag zu Boden, die Trübung verschwindet daher in älteren Kulturen, die Leberstückchen erscheinen gebleicht. In Kartoffelbrei tritt starke Schaumbildung ein, die Kartoffelteilchen sinken später zu Boden. In beiden Nährböden, besonders aber in Leberbouillon, treten nach kurzer Zeit Degenerationserscheinungen auf.

Auf Glukose-Agar bildet der Organismus Kolonien, die im Jugendstadium als zart und durchscheinend, meist granuliert zu bezeichnen sind, ältere Kolonien sind undurchsichtig und nehmen einen grauweißen bis graugelben Farbton an. Die Ränder der Kolonien sind teils glatt, teils gezähnt. Rasenartiges Wachstum wurde selten beobachtet, auf der Traubenzuckerblutagarplatte trat keine Hämolyse ein. In 2 Fällen wurde Wachstum unter aeroben Bedingungen festgestellt.

In der Glukose-Agarstichkultur ist die Gasbildung so intensiv, daß das Medium völlig zerrissen wird.

Physiologie. Gelatine wird nicht verflüssigt, Milch stürmisch koaguliert, das Kasein wird nicht verdaut. Glukose, Maltose und Laktose werden stürmisch vergoren. Die isolierten Stämme waren identisch mit B. saccharobutyricus v. Klecki[3]).

B. amylobacter.

Morphologie. B. amylobacter bildet in flüssigen Medien zunächst zarte, kurze Stäbchen, die sich zur Zeit der Sporenbildung wesentlich verlängern und schwach gebogen erscheinen. Die Sporen sind endständig angeordnet, sind oval und haben ein Achsenverhältnis von etwa 1 : 2 bis 1 : 3[4]). In versportem Zustand ist B. amylobacter schwerlich mit irgendeinem anderen Organismus zu verwechseln. Schwache Beweglichkeit wurde festgestellt.

In flüssigen Nährböden waren die Beobachtungen keineswegs einheitlich. In Kartoffelbrei vermehrte sich der Organismus rasch und bildete in erster Linie Klostridien, Sporen dagegen meist gar nicht, so daß eine Weiterzüchtung nur durch Nährbodenwechsel möglich war. Die mikroskopische Beobachtung des Wachstums war in Leberbouillon oft dadurch erschwert, daß die Sporen sehr rasch abgeworfen wurden, so daß die charakteristischen Formen fehlten. Da der Organismus im allgemeinen Kohlehydrate sehr lebhaft angreift, ist es überraschend, daß er in Eier-Fleisch, wenn auch langsamer, so doch sehr charakteristisch wuchs. Die Gasbildung

---

1) Vgl. Taf. I, Abb. 6 und 7.

2) Vgl. auch A. Cunningham, Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 82. 1930. S. 37.

3) Die Identifikation wurde mit Hilfe einer Kultur durchgeführt, die Herr Dr. Cunningham zur Verfügung gestellt hatte.

4) Vgl. Taf. I, Abb. 8.

war in allen flüssigen Nährmedien kräftig, reichte indessen rein quantitativ nicht an die des B. saccharobutyricus heran.

Als besonderes Kennzeichen sind ferner die auf der Glukose- und Blutagarplatte auftretenden glatten, runden, meist kleinen Kolonien anzusehen. Im durchfallenden Licht erscheinen sie im allgemeinen farblos, doch treten, zumal auf der Blutplatte, in einzelnen Fällen auch zarte grünliche oder bläuliche Töne auf. Mitunter sind die Kolonien schwach granuliert. Auf der Blutplatte tritt keine Hämolyse ein.

Im Agarstich bildet der Organismus regelmäßig Gas, doch meist nur in Form einzelner Bläschen, nur selten kommt es zu einer Zerreißung des Mediums. Hierin unterscheidet sich der Organismus recht deutlich von B. saccharobutyricus, der das Medium völlig zersprengt.

Physiologie. Die Milch wird koaguliert, doch ist im Gegensatz zu B. saccharobutyricus häufig trotz reichlicher Gasbildung eine sichtbare Veränderung der Milch nicht wahrzunehmen, erst beim Kochen tritt in solchen Fällen die Gerinnung ein. Die Gelatine wird nicht verflüssigt, Glukose, Maltose und Laktose werden stürmisch vergoren. Die isolierten Stämme waren identisch mit einer Subkultur des B. tertius Henry[1]).

B. tetanomorphus.

Morphologie. In flüssigen Nährmedien bildet B. tetanomorphus kräftige Stäbchen, die im Gegensatz zu denen des B. cochlearius nicht gebogen bzw. geschweift sind. Alle isolierten Stämme erwiesen sich als beweglich. Der Organismus bildet rasch endständige, runde Sporen[2]). In einzelnen Fällen erfolgte die Sporenbildung erst nach längerer Zeit, eine Beschleunigung konnte durch Wechsel des Nährbodens erreicht werden. In Leberbouillon entwickelt sich B. tetanomorphus gut und bildet geringe Mengen von Gas.

Für die Identifikation sind die auf der Glukose-Agarplatte zu beobachtenden flachen, unregelmäßigen zur Rasenbildung neigenden Kolonien von besonderer Bedeutung. Die Oberfläche der Kolonien zeigt zarte Granulierung, die bei älteren Kolonien oft als mosaikartige Täfelung erscheint. In den meisten Fällen tritt ein grünlicher Farbton auf. Auf der Traubenzucker-Blutagarplatte ist keine Hämolyse zu beobachten.

Physiologie. Gelatine wird nicht verflüssigt, in Milch wächst der Organismus schlecht, meist war eine sichtbare Veränderung der Milch nicht zu beobachten, nur einzelne Stämme koagulierten die Milch. Glukose und Maltose wurden vergoren, Laktose blieb unverändert[3]).

B. sphenoides.

Morphologie. B. sphenoides wächst als zartes, kurzes, bewegliches Stäbchen, das an den Enden zugespitzt erscheint. Die Bildung kurzer Ketten wurde häufig beobachtet. Bei beginnender Sporenbildung schwillt das eine Ende des Stäbchens zunächst an, die fast endständigen

1) Nr. 336 der National Collection of Type Cultures, Lister Institute, London.
2) Vgl. Taf. I, Abb. 9.
3) Die isolierten Stämme stimmten überein mit einem Zeißlerschen Stamm, den Herr Dr. Meyn zur Verfügung gestellt hatte, sowie mit dem B. tetanomorphus Nr. 500 der National Collection of Type Cultures des Lister Instituts, London.

runden Sporen sind wesentlich breiter als das Stäbchen selbst[1]). Im flüssigen Nährboden ertrugen einzelne Stämme die Temperatur von 100° bis zu 30 Min.

In Leberbouillon tritt geringe Gasbildung ein, die Flüssigkeit ist in älteren Kulturen meist grünlich verfärbt.

Auf Glukose-Agar bildet der Organismus zarte, graue, oft granulierte Kolonien, auf feuchtem Substrat wurde Neigung zur Rasenbildung beobachtet. Auf der Traubenzuckerblutagarplatte war im Gegensatz zu den Angaben Zeißlers[2]) Hämolyse deutlich zu erkennen[3]).

Physiologie. Gelatine wurde nicht verflussigt, Milch wurde unter Gabsildung koaguliert, Glukose, Laktose und Maltose wurden stürmisch vergoren.

Pectinobacter amylophilum Makrinow.

Morphologie. Pectinobacter amylophilum gehört nicht zu den obligat anaeroben Arten, er wuchs aber unter anaeroben Bedingungen besser als bei Luftzutritt, er wird infolgedessen von I. A. Makrinow[4]) als fakultativ aerob bezeichnet. In jungen Kulturen bildet er zunächst kurze, schlanke Stäbchen. Die später erscheinenden Sporen sind fast endständig angeordnet, sie treiben den Zelleib stark auf. Das Protoplasma scheint die Sporen schleierartig zu überziehen, da letztere nach Färbung mit Karbolfuchsin gleichsam eingehüllt sind und daher plastischer wirken[5]).

Das beste Wachstum wurde in Kartoffelbrei sowie in Winogradskyscher Zuckerlösung festgestellt. Besonders in Kartoffelbrei zeichnete sich Pectinobacter amylophilum durch starke Gasbildung aus. Er übertraf darin auch B. saccharobutyricus. In Leberbouillon dagegen ist die Gasbildung meist außerordentlich gering.

Der grauweiße Ton der Kolonien auf der Traubenzucker-Agarplatte erinnerte an das Wachstum des B. saccharobutyricus. Neben regelmäßig runden oder schwach gezähnten Kolonien kamen flache Formen mit stark erhabenem Zentrum vor, an der Peripherie wurde häufig ein Ringwall beobachtet. Auf der Traubenzuckerblutagarplatte trat keine Hämolyse ein.

Physiologie. Gelatine wurde in keinem Falle verflüssigt, Milch wurde stürmisch koaguliert, das farblose Serum reagierte stark sauer. Die Vergärung von Laktose war stets deutlich, Maltose und Glukose zeigten ebenfalls Wachstum und saure Reaktion, doch unterblieb die Gasbildung zuweilen.

Pectinobacter amylophilum stellt, wie bereits I. A. Makrinow[6]) beobachtete, an das Nährmedium außerordentlich geringe Ansprüche. So wurde bei den vorliegenden Untersuchungen ein Stamm aus der Verdünnung 10^{-3} des Frischmistes Probstheida in stickstofffreier Zuckerlösung gezüchtet. Nachdem die Sporenbildung eingetreten war, wurde eine Subkultur wiederum im gleichen Nährboden angelegt, aus der der Organismus in Reinkultur erhalten wurde. Untersucht man nun, welche

---

1) Vgl. Taf. I, Abb. 10.

2) J. Zeißler, in Kolle, Kraus, Uhlenhuth, Handbuch d. path. Mikroorg., 3. Aufl. 1930. Bd. 10. S. 120.

3) Ein Zeißlerscher Stamm des B. sphenoides, der von Herrn Dr. Meyn zur Verfugung gestellt wurde, zeigte das gleiche Verhalten.

4) I. A. Makrinow, Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 85. 1931/32. S. 342.

5) Vgl. Taf. I, Abb. 11.

6) I. A. Makrinow, l. c. S. 342.

Stickstoffmengen dem Organismus zur Verfügung standen, so ergibt sich folgende Rechnung. Von dem Stickstoffgehalt des Frischmistes, aus dem die Isolierung durchgeführt wurde, kann, da es sich um eine wässerige Aufschwemmung handelt, nur der wasserlosliche Stickstoff in Ansatz gebracht werden. Dieser beträgt, wie Tabelle 10 zeigt, 0,053%. Die etwa 9 ccm Flüssigkeit enthaltenden Zuckerrohrchen wurden mit 1 ccm der Aufschwemmung 1 : 1000 geimpft, also kann die Stickstoffkonzentration in der Kultur nur etwa 0,0053 mg und in der Subkultur nur etwa 0,00053 mg betragen haben. Das üppige Wachstum, das der Organismus trotz der äußerst geringen Stickstoffnahrung zeigte, läßt ein weiteres Studium der Ernährungsphysiologie dieses Organismus notwendig erscheinen.

Anaerobe Zellulosezersetzer.

Die in den einzelnen Dungproben beobachteten anaeroben Zellulosezersetzer gehören zwei verschiedenen Arten an.

Die erste Art ist leicht zu erkennen an den kurzen, äußerst schlanken Stäbchen, die sich zur Zeit der Sporenbildung stark verlängern. Die sehr großen, runden Sporen sind endständig angeordnet[1]). Auf dem Filtrierpapier erscheint ein gelber Belag. Der Organismus zeigt große Ähnlichkeit mit dem von Y. Khouvine-Delaunay[2]) isolierten B. cellulosae dissolvens. In der zitierten Veroffentlichung ist zwar von ovalen Sporen die Rede, trotzdem scheinen die Organismen identisch zu sein, da auch im vorliegenden Falle speziell bei jüngeren Kulturen, ovale Sporen beobachtet wurden, in älteren herrschten jedoch runde Formen durchaus vor. Eine weitere Übereinstimmung besteht insofern, als der Organismus auch bei 57° C lebensfähig war.

Die zweite Art bildet große Mengen von Gas, die vegetativen Formen sind denen des soeben besprochenen Bazillus sehr ähnlich, sie werden bei der Sporenbildung jedoch bei weitem nicht so lang. Die Sporen sind ebenfalls rund, aber wesentlich kleiner als die oben beschriebenen[3]). Eine genauere Identifikation des Organismus war jedoch nicht möglich. Versuche, Reinkulturen von den Zellulosezersetzern zu erhalten, wurden nicht unternommen.

Abb. 3. Anaerobe Zellulosezersetzer (2000fach vergr.).

Thermophile anaerobe Organismen.

Da bei dem Heißmist Probstheida hohe Temperaturen längere Zeit eingewirkt hatten, wurden diese Proben als für den Nachweis anaerober thermophiler Organismen besonders geeignet angesehen. Die entsprechenden Versuche wurden bei 57° C ebenfalls in Wasserstoff-Atmosphäre durchgeführt. Tatsächlich wurde am 16. 6. bis zur Verdünnung 10^{-6}, am 17. 9. bis zu 10^{-5} und am 26. 10. bis zu 10^{-3} Wachstum beobachtet. Es gelang, die Organismen auf die Platte zu bringen, doch gingen sie meist bei der 2. bzw.

[1]) Vgl. Abb. 3.

[2]) Y. Khouvine-Delaunay, Compt. Rend. Soc. Biol. T. 87. 1922. p. 922—923.

[3]) Vgl. Taf. I, Abb. 12.

3. Plattenkultur ein. Um Anhaltspunkte für die Identifizierung zu bekommen, wurden einzelne Stämme bereits nach der ersten bzw. zweiten Plattenkultur in Agar-Stich, Zucker und Milch geimpft. Dabei zeigte sich, daß ein Bazillus, der morphologisch dem B. tetanomorphus glich, bei 57° C Milch koagulierte und Glukose, Maltose und Laktose unter Gasbildung vergor. Fünf weitere Versuche, den Organismus noch einmal auf die Platte zu bringen, schlugen fehl. Der Stamm 182/41 verhielt sich ebenso, nur ließ er Maltose unverändert. Eine weitere Serie von 6 Stämmen glich in morphologischer Hinsicht dem B. putrificus verrucosus, bei der wiederum vorzeitig vorgenommenen Identifikation verhielten sich die Organismen folgendermaßen:

Stamm Nr.	Milch	Glukose	Maltose	Laktose
180/86	0	0	0	0
180/88	0	0	0	0
180/89	0	+	+	0
180/90	0	0	+	+
181/65	0	0	0	0
181/54	0	0	0	0

Im Agar-Stich zeigten diese Stämme besonders ausgeprägt die typischen Merkmale des Wachstums anaerober Organismen.

Obwohl auch S. R. Damon und W. A. Feirer[1]) bei ihren Versuchen zur Züchtung anaerober thermophiler Organismen nur schwache Fermentationen beobachteten, sollen doch der Unsicherheit vorstehender Ergebnisse wegen Vergleiche mit den von den genannten Autoren isolierten Kulturen nicht angestellt werden. Auch hinsichtlich der von R. Veillon[2]) beschriebenen Arten sind keine Parallelen vorhanden. Vielleicht handelt es sich im vorliegenden Falle um die bekannten bei 37° C gut gedeihenden Arten, bei denen, wie es hier beobachtet werden konnte, Typen vorkommen, die auch bei 57° C zu wachsen vermögen. Von derartigen Fällen berichtet auch Th. Sames[3]), auch seine Organismen zeigten bei weiterer Züchtung immer schwächer werdendes Wachstum.

Einige orientierende Versuche wurden angestellt, die über die bei 57° C auftretende Zellulosezersetzung Aufschluß geben sollten. Es kann keinem Zweifel unterliegen, daß besonders im Heißmist Probstheida bis in den Juni hinein thermophile anaerobe Zellulosezersetzer tätig gewesen sind, da die Zersetzung bei 57° C intensiver vor sich ging als bei 37° C, wie folgende Tabelle zeigt.

Wären nur thermotolerante Arten anwesend gewesen, dann wären diese wahrscheinlich auch bei 37° C zur Entwicklung gekommen, so daß in beiden Fällen gleiche Zahlen hätten gefunden werden müssen. In morphologischer Hinsicht glichen die bei 57° C tätigen Organismen den bei 37° C beobachteten.

[1]) S. R. Damon, and W. A. Feirer, Journ. Bact. Vol. 10. 1925. p. 37—46.
[2]) R. Veillon, Ann. Inst. Pasteur. T. 36. 1922. p. 422—438.
[3]) Th. Sames, Ztschr. f. Hygiene. Bd. 33. 1900. S. 313—362.

Heißmißt Probstheida (16. 6. 1933)		
Verdünnung	Zellulosezersetzung	
	37° C	57° C
10^{-1} nicht pasteurisiert	+	+
pasteurisiert	+	+
10^{-2} nicht pasteurisiert	+	+
pasteurisiert	0	+
10^{-3} nicht pasteurisiert	0	+
pasteurisiert	0	0

Nährböden.

Die Verwendung verschiedener Anreicherungs-Nährböden nebeneinander hat sich außerordentlich gut bewährt. Um feststellen zu können, welche Nährböden für die einzelnen Arten besonders geeignet sind, sei eine kurze Übersicht gegeben, in der die Nährböden und die Zahl der aus ihnen isolierten Stämme angeführt sind.

Arten	Eier-Fleisch		Leber-bouillon		Kartoffel-brei		Zucker-lösung[1])	
	past.	n. past.	past.	n. past.	past.	n. past.	past.	n. past.
B. putrif. verruc. .	22	18	6	6	5	5	0	0
B. putrif. Bienst. .	1	2	0	0	0	0	0	0
B. putrif. tenuis .	0	0	1	0	0	0	0	0
B. cochlearius . . .	3	0	0	0	0	0	0	0
B. sacch. butyr. .	1	5	0	3	12	16	0	2
B. amylobacter . .	4	11	0	4	1	2	0	1
B. tetanomorphus .	3	2	1	1	1	0	0	0
B. sphenoides . . .	4	1	1	1	0	2	0	0
Pectinob. amyl. . .	0	0	1	2	8	5	1	2
	38	39	10	17	27	30	1	5

[1]) Die Zuckerlösung wurde nur bei 3 Proben verwendet.

Wie zu erwarten war, sind für die Eiweißzersetzer Leberbouillon und Eier-Fleisch die geeignetsten Nährböden. B. saccharobutyricus und Pectinobacter bevorzugen Kartoffelbrei. Auffällig ist, daß B. amylobacter, B. tetanomorphus und B. sphenoides sehr gut in Eier-Fleisch gedeihen, anscheinend sagt ihnen dieser Nährboden sogar besser zu als Leberbouillon. Insgesamt lieferten die einzelnen Nährböden folgende Zahl von Stämmen:

Eier-Fleisch	77 Stämme	46,1 %
Kartoffelbrei	57 „	34,1 %
Leberbouillon	27 „	16,2 %
Zuckerlösung	6 „	3,6 %
Insgesamt	167 Stämme	100,0 %

Eier-Fleisch ist demnach ein ganz ausgezeichneter Nährboden für anaerobe Bakterien, Kartoffelbrei hat sich für Kohlehydratzersetzer sehr gut bewährt. Leberbouillon wird in der Anaerobenbakteriologie vor allem deshalb geschätzt, weil die einzelnen Arten schon rein äußerlich an ihrem Wachstum meist gut zu erkennen sind. Eier-Fleisch leistet in dieser Hinsicht kaum

das gleiche. Überraschend war es, daß auch der Kartoffelbrei recht gute Unterscheidungsmerkmale gab, und zwar speziell für diejenigen Organismen, die in der Leberbouillon schwer zu unterscheiden sind. B. amylobacter veränderte den Nährboden am wenigsten, die über den Kartoffelteilchen stehende Flüssigkeit blieb meist schwach getrübt. B. saccharobutyricus führte rasch zu einer ziemlich vollständigen Sedimentation der Partikel, die überstehende Flüssigkeit war in der Regel völlig klar. Pectinobacter amylophilum bewirkte eine so stürmische Gärung im Röhrchen, daß die Kartoffelteilchen nach oben gerissen wurden und von Gasblasen völlig durchsetzt waren. Die darunter stehende Flüssigkeit war auch hier völlig klar. Der Kartoffelbrei dürfte also für Arbeiten, die sich speziell mit Dünger und Boden beschäftigen, neben Leberbouillon und Eier-Fleisch unentbehrlich sein.

Die Neigung zur Rasenbildung auf der Traubenzucker-Agar-Platte kann anscheinend nur bis zu einem gewissen Grade als Artmerkmal gewertet werden, da in einzelnen Fällen ein höherer Wassergehalt des Nährbodens zur Rasenbildung Veranlassung gegeben haben dürfte.

c) Die Anaerobenflora der einzelnen Dungarten.

Zweifellos enthält jeder Stallmist zu Beginn der Lagerung anaerobe Sporenbildner, da diese sowohl im Boden[1]) wie in der Streu[2]) in großer Zahl vorkommen. Auch im Darminhalt[3]) waren sie anzutreffen. Isoliert wurden obligat anaerobe Organismen aus Stalldünger erstmalig von S. A. Severin[4]). Wie der Autor selbst feststellt, scheinen die gefundenen Stämme zur Gruppe des B. tetanus zu gehören. Mit Sicherheit wurde B. tetanus in Stalldünger durch v. Hibler[5]) nachgewiesen, ebenso B. amylobacter. In kalt vergorenem Dünger fand G. Ruschmann[6]) B. putrificus und B. amylobacter in größerer Zahl, dagegen konnte er in heiß vergorenem Stalldünger obligat anaerobe Organismen nur sehr selten nachweisen. Da diese jedoch, wie eben gezeigt wurde, vorhanden gewesen sein müssen, ist anzunehmen, daß auch die Sporen während der Lagerung zugrunde gegangen sind. Das ist jedoch im Hinblick auf die außerordentlich große Widerstandsfähigkeit derselben überraschend. Unter der Voraussetzung, daß die Sporen nicht während der aeroben Phase absterben, sondern unter dem langanhaltenden Einfluß der erhöhten Temperatur langsam zugrunde gehen, müßte es möglich sein, ihren Rückgang zahlenmäßig zu ermitteln, wenn ein und derselbe Stapel während einer längeren Versuchs-

---

[1]) Ucke, Zentralbl. f. Bakt. I. Abt. Bd. 23. 1898. S. 998. J. Kürsteiner, Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 19. 1907. S. 1—26, 97—115, 202—220, 385—399. Derselbe und R. Burri, ebenda. Bd. 21. 1908. S. 289—307. Reindell, Finska Morkult. Fören. Arsbog. 1898. Zit. nach E. Ramann, Bodenkunde. 3. Aufl. 1911. J. Zeißler und L. Raßfeld, Die anaerobe Sporenflora der europäischen Kriegsschauplatze 1917. Jena 1928. S. 161.

[2]) J. Kürsteiner, Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 47. 1917. S. 191.

[3]) M. E. Metchnikoff, Ann. Inst. Past. T. 22. 1908. p. 929—955. W. H. Holmes, Arch. Int. Med. Vol. 17. 1916. p. 453—458. J. H. Brown, Journ. Bact. T. 10. 1925. p. 513—542.

[4]) S. A. Severin, Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 1. 1895. S. 799. Bd. 3. 1897. S. 628, 706.

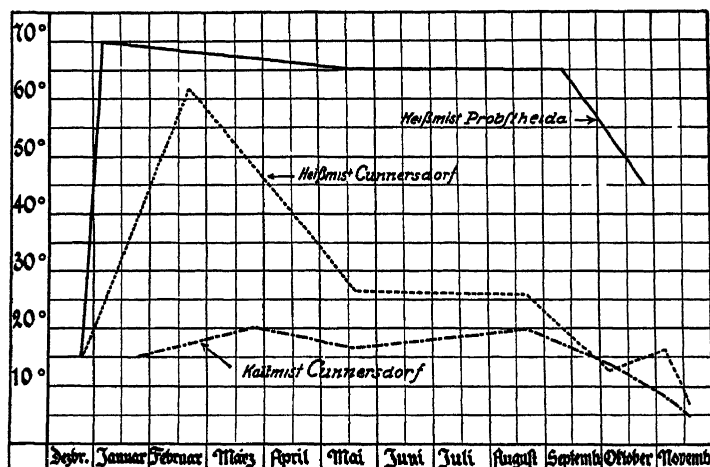
[5]) v. Hibler, Untersuchungen über die path. Anaeroben. Jena 1908.

[6]) G. Ruschmann, Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 70. 1927. S. 214, 383. Bd. 72. 1927. S. 193. Bd. 75. 1928. S. 182.

periode in bestimmten Zeitabständen untersucht wird, wie es bei den vorliegenden Untersuchungen der Fall war.

Tab. 1. Daten der Probeentnahme.

Cunnersdorf						Probstheida		
Kaltmist			Edelmist			Heißmist		
Datum	Temp. °C	Alter	Datum	Temp. °C	Alter	Datum	Temp. °C	Alter
27. 3.	20	6 Tage	20. 2.	62	5 Tage	6. 1.	70	14 Tage
4. 7.	19	3½ Mon.	18. 5.	29	97 „	16. 5.	55	5 Mon.
5. 10.	14	6½ „	21. 8.	27	6¼ Mon.	16. 6.	55	6 „
16. 11.	5	8 „	16. 11.	7	9 „	17. 9.	55	9 „
						26. 10.	45	10½ „



Graphische Darstellung 1. Temperaturverlauf.

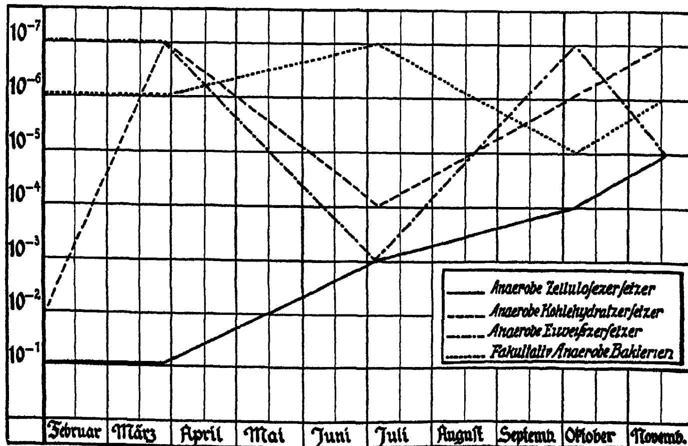
Die Ergebnisse der einzelnen Untersuchungen sind in den Tab. 2—5 und 11—13 und in den graphischen Darstellungen 2—4 zusammengestellt. Es ist jeweils die Zahl der isolierten Stämme einer Art angegeben. Mit Kreuzen sind Stämme gekennzeichnet, deren Zugehörigkeit zu den einzelnen Gruppen auf Grund ihres Verhaltens in flüssiger Kultur und auf Platten anzunehmen war, die jedoch eingingen, bevor sie in die verschiedenen Zuckerarten bzw. in Milch und Gelatine geimpft werden konnten. Soweit dieses Zeichen in niedrigen Verdünnungen auftritt, bezeichnet es Stämme, die als solche nach einmaliger Plattenkultur mit einiger Sicherheit erkannt, aber nicht weiter identifiziert wurden, weil sie gleichzeitig auch in den nächsthöheren Verdünnungen auftraten.

Kaltmist Cunnersdorf.

Wie die Tab. 11 (graph. Darst. 2) zeigt, ist das Ausgangsmaterial nicht sehr reich an anaeroben Keimen. Am stärksten ist B. putrificus verrucosus vertreten. Er konnte bis zu einer Verdünnung von 1 : 100 000 aus der Probe isoliert werden, es müssen also mindestens 100 000 Organismen

dieser Art je Gramm vorhanden gewesen sein. Von den übrigen Arten waren nur 100—1000 Keime je Gramm in der Probe enthalten. Während der ersten Zeit der Lagerung vermehrte sich B. putrificus verrucosus sehr rasch, nach 6 Tagen wurden rund 10 Millionen Organismen dieser Art je Gramm nachgewiesen. Von den anderen Arten tritt nur B. amylobacter ebenfalls in der höchsten Verdünnung auf. Dieses Ergebnis läßt allerdings kaum Schlußfolgerungen auf eine intensive Tätigkeit desselben zu,

Vorkommen und Verteilung anaerober Bakterien.



Graphische Darstellung 2. Kaltmist Cunnersdorf.

Tab. 2. Kaltmist Cunnersdorf.
Anaerobe Zellulosezersetzer.

Verdünnung	Datum der Untersuchung									
	Frischmist		27. 3.		4. 7.		5. 10.		16. 11.	
	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.
10^{-1}	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10^{-2}	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+
10^{-3}	0	0	0	0	+	0	+	0	+	+
10^{-4}	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+
10^{-5}	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+
10^{-6}	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

0 = kein Wachstum; + = Wachstum.

da sowohl B. amylobacter wie B. saccharobutyricus nur bis zu einer Verdünnung von 1 : 1000 regelmäßig nachgewiesen werden konnten. Vom Juli an, also nach 3—4 Monaten, tritt bei allen Gruppen eine starke Vermehrung ein. Die regste Entwicklung entfaltet wiederum B. putrificus verrucosus, nach ihm B. saccharobutyricus, an dritter Stelle ist B. amylobacter zu nennen. B. tetanomorphus, der zwar aus dem Frischmist isoliert werden konnte, verschwand zunächst vollkommen. Im Oktober wurde er dann wieder beobachtet, kam

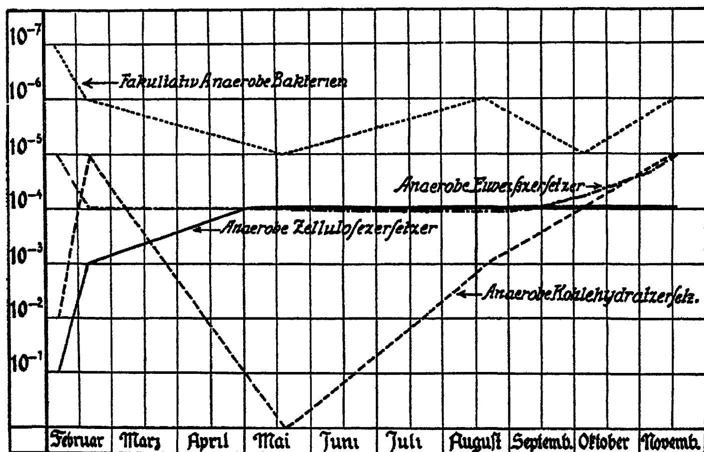
aber schon bei der ersten Plattenkultur nicht zur Entwicklung, erst aus dem 8 Monate gelagerten Dünger gelang seine Reinzüchtung wieder. Pectinobacter amylophilum war im Frischmist und auch noch im 4 Wochen alten Dünger vorhanden, fehlt aber späterhin und wurde erst bei der nach 8 Monaten vorgenommenen Untersuchung wieder nachgewiesen.

Die Zahl der anaeroben Zellulosezersetzer blieb während der ersten Zeit der Lagerung unverändert. Im Juli hat sie sich verdreifacht, nach 8 Monaten ist sie auf das 5fache gestiegen.

Edelmist Cunnersdorf.

Im Gegensatz zu dem Kaltmist trat im Edelmist (vgl. Tab. 12, graph. Darst. 3) während der Lagerung keine Vermehrung, sondern vielmehr ein deutlicher Rückgang in der Zahl der Keime des B. putrificus verrucosus ein. Erst nach 10 Monaten wurde er wieder in derselben Verdünnung (1 : 100 000) nachgewiesen, aus der er im Frisch-

Vorkommen und Verteilung anaerober Bakterien.



Graphische Darstellung 3. Edelmist Cunnersdorf.

mist isoliert worden war. Die übrigen Organismen, vor allem Pectinobacter amylophilum, aber auch B. amylobacter und B. saccharobutyricus wiesen eine Zunahme auf. Der zuerst genannte Organismus erschien bei dem 5 Tage alten Mist sogar in einer höheren Verdünnung als B. putrificus verrucosus. Überraschenderweise ging die Zahl der Kohlehydratzersetzer in den nächsten Monaten so weit zurück, daß ihr Nachweis nicht gelang. Aus dem 3½ und 6½ Monate alten Edelmist konnten nur einige Stämme von B. putrificus verrucosus isoliert werden. Es kann jedoch keinem Zweifel unterliegen, daß auch diese in irgendeiner Weise verändert waren, die Isolierung der Stämme gelang häufig nur nach wiederholtem Wechsel des Anreicherungsnährbodens. Die Annahme, daß die Kohlehydratzersetzer völlig zugrunde gegangen seien, wäre jedoch ein Irrtum, denn bei der letzten Untersuchung waren sie wieder ungefähr in der gleichen Zahl anwesend wie zu Beginn der Heißvergärung.

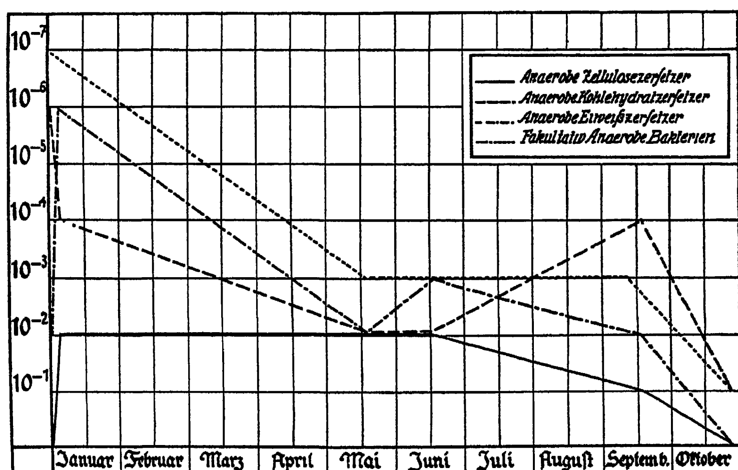
Tab. 3. Edelmist Cunnersdorf.
Anaerobe Zellulosezersetzer.

Verdünnung	Datum der Untersuchung									
	Frischmist		20. 2.		18. 5.		21. 8.		16. 11.	
	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.
10^{-1}	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+
10^{-2}	0	0	+	0	+	+	+	+	+	+
10^{-3}	0	0	+	0	+	0	+	0	+	+
10^{-4}	0	0	0	0	+	0	+	0	0	+
10^{-5}	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10^{-6}	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

0 = kein Wachstum; + = Wachstum.

Die Intensität der Zellulosezersetzung nahm zunächst rascher zu als beim Kaltmist, am Schluß des Versuchs wurden anaerobe Zellulosezersetzer jedoch nur bis zur Verdünnung 1 : 10 000 nachgewiesen.

Vorkommen und Verteilung anaerober Bakterien.



Graphische Darstellung 4. Heißmist Probstheida.

Heißmist Probstheida.

Bei dem in Probstheida (vgl. Tab. 13, graph. Darst. 4) durchgeführten Lagerungsversuch ist zunächst hervorzuheben, daß das Ausgangsmaterial kaum Organismen der Gruppe des B. putrificus verrucosus enthielt. Dagegen war B. saccharobutyricus sehr stark vertreten, noch zahlreicher der fakultativ aerobe Pectinobacter amylophilum. Auch B. sphenoides war bis zu einer Verdünnung von 1 : 10 000 nachweisbar. Bereits nach 14 Tagen trat eine Umschichtung ein. B. putrificus verrucosus entwickelte sich sehr rasch, neben ihm erschien B. cochlearius. Die Kohlehydratzersetzer gingen stark zurück, B. sphenoides verschwand völlig, nur B. tetanomorphus vermochte sich etwas zu

vermehren. Vom Mai bis September waren nur wenig anaerobe Organismen nachweisbar. Im 10. Monat der Lagerung kam auch B. putrificus verrucosus nicht mehr zur Entwicklung, ebenso die meisten Kohlehydratzersetzer, nur B. amylobacter konnte noch aus der Verdünnung 1 : 10 isoliert werden.

Tab. 4. Heißmist Probstheida.
Anaerobe Zellulosezersetzer.

Verdünnung	Datum der Untersuchung													
	Frischmist		6. 1.		16. 5.		16. 6.		17. 9.		26. 10.		Unterste Schicht	
	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.
10^{-1}	0	0	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	+	+
10^{-2}	0	0	+	0	+	0	+	0	0	0	0	0	+	+
10^{-3}	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+
10^{-4}	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+
10^{-5}	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10^{-6}	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

0 = kein Wachstum; + = Wachstum.

Anaerobe Zellulosezersetzer wurden im Ausgangsmaterial nicht gefunden. Sie traten jedoch bald in Erscheinung und waren bereits nach 14 Tagen bis zu der Verdünnung 1 : 100 nachzuweisen. Auf dieser Höhe hält sich ihre Zahl während der nächsten Monate, aber am Ende der Lagerung kommt die anaerobe Zellulosezersetzung völlig zum Stillstand.

Die untere Schicht des Heißmistes Probstheida hatte sich während der Lagerung nur ungenügend erwärmt. Die biologische Beschaffenheit dieses Mistes weicht infolgedessen von der des überhitzten Gärproduktes stark ab. Sie wird gekennzeichnet durch hohe Keimzahl und das Vorherrschen von B. putrificus verrucosus (vgl. Tab. 5). Anaerobe Zellulosezersetzer wurden noch in der Verdünnung 1 : 10 000 gefunden (vgl. Tab. 4).

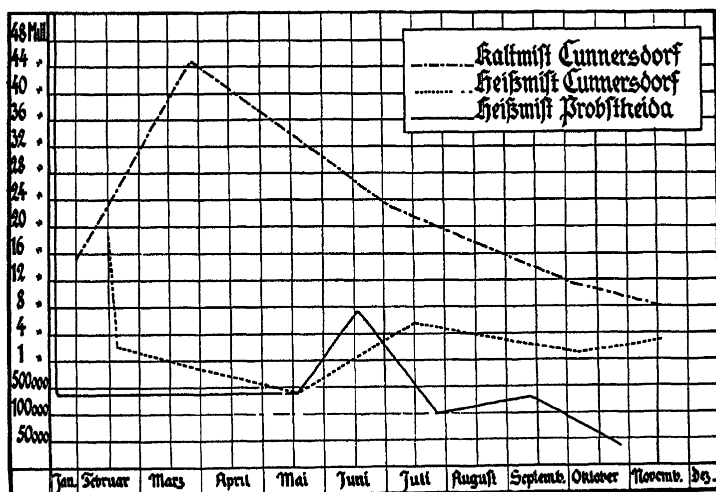
Tab. 5. Heißmist Probstheida, untere Schicht (26. 10. 1933).
Vorkommen und Verteilung anaerober Bakterien.

Organismus	Nahrboden	Verdunnung									
		1 : 100		1 : 1000		1 : 10 000		1 : 100 000		1 : 1 000 000	
		n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.
B. putrificus verrucosus	Eier-Fleisch .	1	1	1	1	1	1	1	1		
	Leberbouillon.	+		+	+	+	+	+	+		
B. putrificus tenuis	Leberbouillon.				1						
B. saccharobutyricus	Kartoffelbrei .	1									
B. amylobacter	Kartoffelbrei .		1								
B. sphenoides	Kartoffelbrei .	1									

d) Die aerobe Flora der Düngerarten.

Obwohl es nicht der Zweck vorliegender Untersuchungen war, die aerobe Flora während des Verlaufs der Rottung zu studieren, sollen zur genaueren Kennzeichnung der Proben einige Angaben hierüber gemacht werden, zumal sich dadurch ein umfassenderer Einblick in das Ineinandergreifen der einzelnen Umsetzungsvorgänge ergibt. Die entsprechenden Ergebnisse sind in den Tab. 6—8 und der graphischen Darstellung 5 enthalten. Hinsichtlich der Gesamtkeimzahlen werden die älteren Ergebnisse von G. Ruschmann[1]) und W. Goeters[2]) in vollem Umfange bestätigt, mit der von F. Löhnis[3]) angegebenen Kurve ergibt sich eine deutliche Übereinstimmung. Im Einklang mit den Befunden G. Ruschmanns konnten auch hier bei Edelmist hohe Sporenprozentzahlen errechnet werden. Bei dem Heißmist Probstheida liegen die Dinge allerdings anders, doch handelt es sich hier, wie noch näher auszuführen sein wird, nicht um normales Gärgut.

Gesamtkeimzahlen aerober Bakterien.



Graphische Darstellung 5.

Interessant ist die starke Zunahme der Aktinomyzeten im Kaltmist Cunnersdorf. Beim Edelmist Cunnersdorf erscheinen sie dagegen erst am Schluß der 10monatigen Lagerung. Im Heißmist Probstheida traten sie zwar im Mai auf, waren aber gegen Ende der Lagerung kaum mehr nachzuweisen. Im Edelmist Cunnersdorf wurden thermophile Aktinomyzeten festgestellt, ihre Zahl schwankte zwischen 1000 und 10 000 je Gramm.

Die Zahl der Organismen der Coligruppe ging während der Lagerung stark zurück, beim Edelmist rasch, beim Kaltmist sind nach 3½ Monaten noch immer 1000 Keime dieser Art vorhanden. Im Hinblick auf die geringe

---

[1]) G. Ruschmann, Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 70. 1927. S. 214, 383. Bd. 72. 1927. S. 193. Bd. 75. 1928. S. 182. Beiträge z. Biochemie d. Abbauvorg. b. pflanzl. Roh- u. Abfallstoffen. Hab.-Schrift. Berlin 1929.

[2]) W. Goeters, Unters. üb. Keimgeh. u. Wirkung versch. behand. Stalldüngers. Diss. phil. Leipzig 1927.

[3]) F. Löhnis, Fortschr. d. Landw. Bd. 4. 1929. S. 65.

Hitzeresistenz der Colibakterien[1]) ist es überraschend, daß beim Heißmist Probstheida sich trotz der hohen Temperaturen immer noch einige Keime für längere Zeit lebensfähig zu erhalten vermochten.

Tab. 6. Kaltmist Cunnersdorf. Keimgehalt je g.

Datum d. Untersuch.	Aerobe Gesamt-Keimzahl	Aktinomyzeten	Aerobe Sporen	Sporen in % der Gesamt-Keimzahl	Organismen der Coligruppe	Thermophile Organismen	Anaerobe Gesamt-Keimzahl a. Platten
31. 1.[1])	15 000 000	—	400 000	2,6	100 000	150 000	—
4. 2.[1])	4 500 000	—	2 900 000	64,6	100 000	—	2 250 000
20. 2.[1])	19 000 000	—	410 000	2,15	440 000	100	2 100 000
27. 3.	45 000 000	300 000	360 000	0,8	200 000	180 000	25 500 000
4. 7.	23 000 000	—	1 000 000	4,8	1 000	2 100 000	5 000 000
5. 10.	11 400 000	1 000 000	150 000	1,31	5	5 000 000	165 000
16. 11.	8 000 000	2 400 000	2 900 000	36,2	100	200 000	2 600 000

[1]) Frischmist.

Tab. 7. Edelmist Cunnersdorf. Keimgehalt je g.

Datum d. Untersuch.	Aerobe Gesamt-Keimzahl	Aktinomyzeten	Aerobe Sporen	Sporen in % der Gesamt-Keimzahl	Organismen der Coligruppe	Thermophile Organismen	Anaerobe Gesamt-Keimzahl a. Platten
Frischmist	19 000 000	—	410 000	2,15	440 000	180 000	25 500 000
20. 2.	2 000 000	—	1 300 000	65,0	100	630 000	2 200 000
18. 5.	400 000	—	160 000	40,0	100	830 000	41 000
4. 7.	11 700 000	2 000	—	—	100	1 000 000[1])	3 400 000
5. 10.	1 300 000	—	800 000	61,5	—	250 000	280 000
16. 11.	3 000 000	30 000	2 800 000	93,3	—	100 000[2])	1 500 000

[1]) 10 000 Aktinomyzeten.
[2]) 50 000 Aktinomyzeten.

Tab. 8. Heißmist Probstheida. Keimgehalt je g.

Datum d. Untersuch.	Aerobe Gesamt-Keimzahl	Aktinomyzeten	Aerobe Sporen	Sporen in % der Gesamt-Keimz.	Organismen der Coligruppe	Thermophile Organismen	Anaerobe Gesamt-Keimzahl a. Platten
Frischmist	120 000 000	—	51 000	0,04	500 000	210 000	30 000 000
10. 1.	390 000	—	—		100	—	—
16. 5.	400 000	—	4 900	1,20	100	80 000	3 000
16. 6.	7 500 000	10 000	19 000	0,25	100	14 000 000	< 1 000
26. 7.	< 100 000	—	—		0	28 000 000	—
12. 9.	300 000	50 000	60 000	20,00	0	500 000	3 000
26. 10.	36 000	600 000	600	1,66	0	10 000	40
26. 10.[1])	11 000 000	900 000	1 360 000	12,4	100	< 1 000	2 500 000
26. 10.[2])	27 000 000	1 000 000	—		1000	—	—

[1]) Untere Schicht.
[2]) Randschicht.

[1]) W. Patzschke, Ztschr. f. Hygiene. Bd. 81. 1916. S. 227—255.

Die Zahl der thermophilen Organismen steigt bei den Heißmistarten ziemlich rasch an, fällt aber später stark ab. Da auch im Kaltmist Cunnersdorf eine deutliche Zunahme der bei 57° C wachsenden Organismen beobachtet wurde, obwohl die Temperatur im Stapel 20° C nicht überstieg, ist anzunehmen, daß es sich hier nicht um thermophile, sondern vielmehr um thermotolerante Arten handelt. Auch thermotolerante Pilze wurden wiederholt beobachtet.

Die fakultativ anaeroben Keime wurden in derselben Weise gezählt, wie das G. Ruschmann[1]) bereits getan hat, nur wurden die Platten bei den vorliegenden Untersuchungen in der Wasserstoffatmosphäre bebrütet. Die entsprechenden Kurven zeigen ähnliche Schwankungen wie die der aeroben Gesamtkeimzahlen. Bei dem Heißmist Probstheida und beim Kaltmist Cunnersdorf liegen sie etwa in gleicher Höhe wie die Zahlen obligat anaerober Bakterien, beim Edelmist Cunnersdorf liegen sie deutlich höher. Daß bei dieser Methode vereinzelt auch obligat anaerobe Keime zur Entwicklung zu gelangen vermögen, wurde bereits festgestellt[2]). Auch im Verlauf der vorliegenden Untersuchungen wurden, besonders bei Gasbildung, einzelne Kolonien, die in ihrem Äußeren denen obligat anaerober Bakterien glichen, in den für diese vorgesehenen flüssigen Nährböden weitergezüchtet, doch erwiesen sich nur 25% der geprüften Kulturen als obligat anaerobe Organismen.

Ähnlich wie bei den anaeroben Bakterien[3]) machten sich auch in der Zusammensetzung der aeroben Flora deutliche Unterschiede zwischen dem Inneren des Stapels und den ungenügend erhitzten Teilen (Rand- und Bodenschicht) geltend. Die in Tab. 8 für diese Schichten angegebenen Werte ergänzen die bei der Isolierung anaerober Organismen gesammelten Erfahrungen in jeder Weise. Hohe Gesamtkeimzahlen und die Anwesenheit von Organismen der Coligruppe können als Kennzeichen derartiger Gärprodukte gelten. Innerhalb der Randschicht hatten sich außerdem beim Zusammensinken des Düngers kleine Hohlräume gebildet, in denen lebhafte Pilzentwicklung zu einer starken Zersetzung des Materials geführt hatte.

c) Die Bedeutung der Mikroflora für die Rotte der untersuchten Düngerstapel.

Wenn im folgenden der Versuch gemacht werden soll, Beziehungen zwischen dem Vorhandensein anaerober Organismen und den Veränderungen, die im lagernden Dünger vor sich gegangen sind, festzustellen, so kann zunächst eingewendet werden, daß die Anwesenheit der Organismen allein zu Schlußfolgerungen auf ihre Tätigkeit nicht berechtigt, da die einzelnen Keime in Sporenform im Dünger enthalten sein können und keinerlei Betätigung entfalten. Wenn es jedoch gelingt, eine deutliche Vermehrung anaerober Arten nachzuweisen, wie es bei den vorliegenden Untersuchungen wiederholt der Fall war, kann angenommen werden, daß auch anaerobe Bakterien sich an den Umsetzungen im lagernden Stalldünger beteiligen.

Ein Vergleich der beiden Cunnersdorfer Mistarten zeigt zunächst, daß die anaeroben Bakterien durch die Heißvergärung außerordentlich stark gehemmt wurden. Wenn es auch nicht zu einer Vernichtung derselben

---

[1]) G. Ruschmann, l. c.

[2]) H. Glathe and A. Cunningham, Journ. Agr. Sci. Vol. 23. 1933. p. 551.

[3]) Vgl. Tab. 5.

kam, so darf doch vermutet werden, daß sie mindestens für einige Zeit nicht in größerem Umfange an den Umsetzungen beteiligt waren.

Daß die Abbauvorgänge in heißvergorenem Dünger grundsätzlich anders verlaufen als im Kaltmist, dürfte schon durch obige Ausführungen klargelegt sein. Eine weitere Stütze für diese Ansicht ergibt sich dann, wenn man die Stadien berücksichtigt, in denen Vermehrung bzw. Abnahme einzelner Arten beobachtet wurden. Beim Kaltmist trat sehr rasch eine intensive Vermehrung des B. putrificus verrucosus ein, während die Zahl der Kohlehydratzersetzer (abgesehen von dem bereits erwähnten unsicheren B. amylobacter des am 27. 3. 1933 untersuchten Kaltmistes) kaum eine Veränderung zeigt. Beim Edelmist nahm B. putrificus verrucosus zunächst ab, während die Kohlehydratzersetzer sich nachweisbar vermehrten. Im weiteren Verlauf der Gärung war B. putrificus verrucosus zwar noch anwesend, aber, wie ebenfalls bereits betont wurde, offenbar so stark geschwächt, daß er kaum einen erheblichen Einfluß auf die Gärung ausgeübt haben dürfte. Bei der allgemeinen Vermehrung, die am Schlusse der Versuche einsetzte, sind Unterschiede nicht festzustellen. Es scheint daher, daß während der ersten 10 Monate der Lagerung die Eiweißzersetzer in ihrer Tätigkeit gehemmt und bis zu einem gewissen Grade von Kohlehydratzersetzern abgelöst wurden.

Es ist auffällig, daß die meisten Kurven im Mai bzw. Juni ein Minimum erreichen und sich dann wieder aufwärts bewegen. Vielleicht liegt hier ein Einfluß der Jahreszeit vor, wie er besonders bei den Stickstoffumsetzungen im Boden nachgewiesen wurde. Die Abstände zwischen den Probenahmen der vorliegenden Untersuchungen sind indessen so groß, daß bestimmte Schlüsse aus den Ergebnissen nicht gezogen werden können.

Das Ausgangsmaterial des in Probstheida durchgeführten Lagerungsversuchs unterschied sich deutlich von dem der Cunnersdorfer Dungarten durch das Vorherrschen der Kohlehydratzersetzer. Vom Pectinobacter amylophilum waren 1 000 000 Keime je Gramm vorhanden, von B. saccharobutyricus 100 000, aber nur 100 Organismen der Putrificus-Gruppe. Dagegen enthielt der Cunnersdorfer Frischmist 100 000 Keime des B. putrificus verrucosus je Gramm und nur 1000 von B. amylobacter. Bei dem Versuch in Probstheida wurde die anaerobe Flora nach einem kurzen Aufflackern so gut wie restlos vernichtet.

In biologischer Hinsicht glich der Heißmist Probstheida einem einwandfreien Edelmist durchaus, seine äußere Beschaffenheit entsprach jedoch, wie bereits auf S. 5 ausgeführt wurde, in keiner Weise den Anforderungen, die an einen solchen gestellt werden müssen. Eine Prüfung der Reaktion ergab, daß die Wasserstoffionenkonzentration auf p_H 5,62 (in KCl-Aufschwemmung) gestiegen war. Erfahrungsgemäß weist aber der Stalldünger in frischem Zustand eine Reaktion von etwa p_H 7,1 und nach der Lagerung von p_H 8,0—8,6 auf.

Man könnte die saure Reaktion des Heißmists Probstheida zunächst darauf zurückführen, daß größere Mengen von Grünfutter-Silage von den Tieren im Stall verstreut wurden und so in den Dünger gelangten. In dem vorliegenden Falle besteht diese Möglichkeit jedoch nicht, da als Grundfutter eingesäuerte Kartoffeln gegeben wurden und nicht anzunehmen ist, daß hiervon größere Mengen in den Dünger gelangten.

Eine weitere Erklärungsmöglichkeit besteht darin, daß während der Lagerung eine Anhäufung der bei der Zersetzung der Kohlehydrate entstehenden Säuren eintrat. Im Ausgangsmaterial war Pectinobacter amylophilum am stärksten vertreten. Dieser Organismus wurde im Jahre 1915 von I. A. Makrinow[1]) aus der Rostflussigkeit des Flachses isoliert und als Pektinzersetzer beschrieben. In einer neueren Arbeit teilt I. A. Makrinow[2]) mit, daß Pectinobacter von den Kohlehydraten in erster Linie Stärke angreift. Ein Vergleich der Tab. 11—13 (s. auch S. 80) zeigt, daß seine Vorliebe fur Stärke sich insofern auswirkte, als er in 68% aller Fälle aus Kartoffelbrei gezüchtet werden konnte, nur 16% der Stämme wurden aus Leberbouillon, der Rest aus mineralischer Zuckerlosung isoliert.

Um Klarheit über die Ursachen des starken Auftretens von Pectinobacter zu gewinnen, wurde die Anaerobenflora eingesauerter Kartoffeln aus Probstheida sowie aus Cunnersdorf näher untersucht. In Cunnersdorf waren die gedämpften Kartoffeln teils mit, teils ohne Zusatz von entrahmter Milch eingesäuert worden. In der letzteren Probe war Pectinobacter nicht nachzuweisen, dagegen kam er in der zuerst genannten in geringer Zahl vor. In großer Menge wurde er jedoch in dem aus Probstheida stammenden Material nachgewiesen. Es kann daher wohl mit Bestimmtheit angenommen werden, daß der Organismus während des in Probstheida durchgeführten Versuchs aus dem Futter in den Dünger gelangte, doch konnen uber den Weg keine bestimmten Angaben gemacht werden. Ein Verstreuen von Futter im Stalle ist wohl kaum anzunehmen, es besteht aber die Möglichlichkeit, daß der Organismus, dessen Sporen außerordentlich widerstandsfähig sind, den Verdauungstraktus des Tieres ungeschädigt passierte und sich im Dunger intensiv weiter entwickelte. In diesem Zusammenhang verdient noch hervorgehoben zu werden, daß in Probstheida auch B. sphenoides, der ebenfalls ein starker Kohlehydratzersetzer ist, sowohl im Sauerfutter wie im Stalldünger in größerer Zahl nachgewiesen wurde, während er in den Cunnersdorfer Düngerproben fehlte.

Die saure Reaktion im Heißmist Probstheida kann wahrscheinlich z. T. auf die Tätigkeit des Pectinobacter zurückgefuhrt werden, da er nach I. A. Makrinow[3]) Essig-, Ameisen- und auch geringe Mengen von Milchsäure erzeugt. Die Anhäufung von Säuren im Nährboden führt bei diesem Organismus nicht wie bei vielen anderen[4]) zu einer frühzeitigen Degeneration, er besitzt vielmehr eine ausgesprochene Säureresistenz. In der Röstflüssigkeit lebt er bei Reaktionen von p_H 5,2—5,0, so daß auch im vorliegenden Falle von seiten der Reaktion keine Hemmung der Lebenstätigkeit zu erwarten gewesen ist.

Wenn nun die Wahrscheinlichkeit besteht, daß aus dem Futter stammende Organismen den Rotteverlauf im lagernden Stalldünger wesentlich beeinflussen, so ergibt sich die Notwendigkeit, bei Untersuchungen über die Düngerrotte die Fütterung in weit stärkerem Maße als bisher in Betracht zu ziehen.

[1]) I. A. Makrinow, Arch. biol. Nauk. Bd. 18. 1915. 5. p. 440—452.
[2]) I. A. Makrinow, Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 85. 1931/32. S. 339 bis 348.
[3]) I. A. Makrinow, l. c., S. 343.
[4]) J. Zeißler und L. Raßfeld, Die anaerobe Sporenflora der europ. Kriegsschauplätze 1917. Jena 1928. S. 76. (Spez. Fraenkelscher Gasbazillus.)

Da auch in dem Cunnersdorfer Frischmist größere Mengen von Kohlehydratzersetzern enthalten waren, hätte auch dort eine höhere Wasserstoffionenkonzentration erwartet werden können. Ziemlich übereinstimmend zeigte jedoch die KCl-Aufschwemmung dieser beiden Mistarten eine Reaktion von p_H 8,5. Vermutlich haben die Stoffwechselprodukte des B. putrificus verrucosus, der während der Lagerung stets nachweisbar war, hier neutralisierend gewirkt. Im Heißmist Probstheida dagegen trat er gegenüber den Kohlehydratzersetzern stets in den Hintergrund, außerdem wurde eine gewisse Hemmung der Wachstumsfreudigkeit bei den isolierten Stämmen beobachtet. Um den Einfluß der hohen Temperaturen auf B. putrificus verrucosus erkennen zu können, wurden einzelne Stämme bei 57° C gezüchtet. Die Kulturen zeigten Wachstum, die Gasbildung war schwächer, in der Leberbouillon setzte die charakteristische Schwärzung nur sehr langsam ein, in mehreren Fällen unterblieb sie völlig. Diese Beobachtung stimmt mit der von V. Oprescu[1]), wonach das proteolytische Enzym bei Temperaturen zwischen 60 und 65° C zerstört wird, überein. Die saure Reaktion des in Probstheida erzeugten Gärprodukts dürfte somit auch auf die zu hohen Temperaturen zurückzuführen sein, und zwar in der Weise, daß diese eine Hemmung der Eiweißzersetzung und damit auch der Ammoniakbildung bewirkt haben, so daß ein Mangel an neutralisierend wirkenden Stoffen eintrat. Auch in anderen Fällen ist bereits auf den ungünstigen Einfluß zu starker Erhitzung hingewiesen worden[2]).

Daß die hohen Temperaturen sogar in erster Linie für das Mißlingen der Gärung verantwortlich zu machen sind, geht auch aus folgender Überlegung hervor. Bei der Edelmistbereitung pflegen sich die unteren Schichten nicht in demselben Maße zu erhitzen wie das Innere des Stapels, infolgedessen ist auch der Verlauf der Rotte und die Zusammensetzung der Gärprodukte verschieden. Der Dünger der unteren Schicht war stark verrottet, hatte eine schwarzbraune Färbung angenommen und roch schwach faulig. Die Faserung des Strohes war kaum noch zu erkennen, die Reaktion betrug ph 8,48 (in KCl-Aufschwemmung). Die anaerobe Flora dieser Schicht (vgl. S. 22) setzte sich wesentlich anders zusammen als die des Kernes, sie zeigte die typischen Merkmale eines Kaltmistes, wie er in Cunnersdorf erzeugt wurde. Neben einer außerordentlich starken Flora von B. putrificus verrucosus verschwinden die Kohlehydratzersetzer fast völlig. Die aus diesem Mist isolierten Stämme unterschieden sich deutlich von denen des stark erhitzten Stalldungs, sie zeigten größere Wachstumsfreudigkeit, ihre Identifikation gelang infolgedessen wesentlich rascher als die der aus dem überhitzten Material isolierten Organismen. Diese Erscheinung deutet darauf hin, daß die physiologische Aktivität besonders der eiweißzersetzenden Stämme durch die hohen Temperaturen stark geschädigt wurde. Die charakteristischen Unterschiede der unteren Schicht und des Kerns lassen klar erkennen, daß die Ergebnisse von Lagerungsversuchen in kleinem Maßstab, wie sie häufig angestellt worden sind, zu falschen Schlußfolgerungen führen können und infolgedessen nicht verallgemeinert werden dürfen.

Auch die anaerobe Zellulosezersetzung zeigt bei den einzelnen Düngerarten recht auffällige Unterschiede. Im Kaltmist Cunnersdorf ist eine Steigerung der Zahl der Zellulosezersetzer bis zum Schluß des Versuchs zu beob-

---

[1]) V. Oprescu, Arch. f. Hygiene. Bd. 33. 1898. S. 164.

[2]) K. Beinert, Dtsch. landw. Presse. Bd. 57. 1930. S. 535, 549; G. Ruschmann, Biedermanns Zentralbl. f. Agrik.-Chem. Bd. 60. 1931. S. 177.

achten. Die Intensität der Zersetzung dürfte hier weiterhin durch die Aktinomyzeten, die sich vom März an sehr stark vermehrten, erhöht worden sein[1]). Beim Edelmist Cunnersdorf nahm die Zahl der Zellulosezersetzer vom April an nicht mehr zu, blieb aber immer auf gleicher Höhe. Trotz der außerordentlich hohen Temperaturen im Heißmist Probstheida sind bis in den Juni hinein etwa 100 Zellulosezersetzer je Gramm vorhanden, von diesem Zeitpunkt an nehmen sie jedoch stetig ab und sind am Schluß des Versuchs überhaupt nicht mehr nachzuweisen. Auch hierfür dürften saure Reaktion und hohe Temperaturen verantwortlich zu machen sein, denn in der untersten Schicht sind sie noch am Schluß bis zur Verdünnung 10^{-4} vorhanden.

Die einzelnen Komponenten der Rotte, die bereits eingangs kurz gestreift wurden, sind nur bis zu einem gewissen Grade biologische Umsetzungsvorgänge, zum anderen Teil sind sie als chemisch-physikalische Prozesse aufzufassen. G. Ruschmann[2]) stellt fest, daß bei der Rotte des Heißmistes in erster Linie die letzteren mitwirken und höchstens indirekt die biologischen Faktoren. Wird diese Theorie mit den im Laufe dieser Untersuchungen gesammelten Erfahrungen verglichen, dann kann sie kaum bestätigt werden. Der Heißmist Probstheida war in keiner Weise gemürbt, er war bei jeder Prüfung den Cunnersdorfer Proben deutlich unterlegen. Es ist nicht einzusehen, weshalb eine stärkere Erwärmung die Mürbung hemmte, wie es doch offenbar der Fall war. Es hätte eher eine Förderung der Rotte erwartet werden können, da alle chemischen Prozesse bei höheren Temperaturen beschleunigt verlaufen. Außerdem können die großen Schwankungen, denen die Zahl der Organismen während der Lagerung unterliegt, wohl nur so gedeutet werden, daß sowohl im Kaltmist Cunnersdorf wie wahrscheinlich auch im Edelmist anaerobe Bakterien sich an den Umsetzungen beteiligt haben. Die Heißvergärung hat jedoch zur Folge, daß die ungeregelte Entwicklung und Vermehrung von Organismen, wie sie im Kaltmist in Erscheinung tritt, in bestimmten Grenzen gehalten wird. Im Heißmist Probstheida dagegen, dessen äußere Beschaffenheit, verglichen mit dem Frischmist, nur sehr geringe Veränderungen erkennen ließ, war die Zahl der Mikroorganismen auf ein Minimum zurückgegangen.

Vergleicht man die Endprodukte der 3 Lagerungsversuche, so ergibt sich, daß nur bei Temperaturen bis zu 65° C ein einwandfreier Edelmist erzeugt werden kann, daß dagegen eine Erhitzung des Düngers über 65° C hinaus unter allen Umständen vermieden werden muß. Auch die lebhafte Entwicklung von Mikroorganismen, wie sie sich beim Kaltmist Cunnersdorf in den hohen Keimzahlen für aerobe wie für anaerobe Organismengruppen ausprägt, ist jedenfalls nicht wünschenswert, da sie zu Eiweißbildung und Verlusten an Masse führt.

Auch bei der behelfsmäßigen Edelmistbereitung scheint die Gärung im allgemeinen in derselben Weise zu verlaufen, und auch hier kann es zu

[1]) A. Krainsky, Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 41. 1914. S. 673; A. E. Traaen, Nyt. Magazin f. Naturw. Bd. 52. 1914. I, S. 120—121; F. M. Scales, Bot. Gaz. Bd. 60. 1915. p. 149—153; S. A. Waksman, Abstr. Bact. Vol. 3. 1919. No. 6; derselbe und H. Heukelekian, IV. Intern. Conf. Soil Science. III. Comm. Rom 1926, ref. in Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 69. S. 266; derselbe und C. E. Skinner, Journ. Bact. Vol. 12. 1926. p. 57—84; derselbe und R. J. Dubos, Compt. rend. (Paris). T. 185. 1927. p. 1226—1228.

[2]) G. Ruschmann, l. c.; Zuckerrübenbau. Bd. 10. 1928. S. 111; Ztschr. f. Spiritus-Ind. Bd. 51. 1928. S. 258; Fortschr. d. Landw. Bd. 2. 1927. S. 46; Biederm. Zentralbl. Bd. 60. 1931. S. 177.

ähnlichen Störungen kommen, wie sie in der Gärstatt Probstheida beobachtet wurden. Als Beispiel seien folgende Ergebnisse angeführt, die bei der Untersuchung von 3 Dungproben erhalten wurden:

Probe I: ein typischer Kaltmist;
Probe II: ein typischer Edelmist[1]);
Probe III: ein saurer, ungenügend gerotteter Heißmist[2]).

Probe Mistart	I Kaltmist	II Edelmist	III Heißmist
Gesamtkeimzahl je g	2 500 000	1 000 000	2 800 000
Colikeime je g	50	0	10
Anaerobe Organismen je g:			
B. putrificus verrucosus . .	1 000	0	10
B. saccharobutyricus . . .	1 000	0	0
B. tetanomorphus	0	100	0
Zellulosezersetzer	10 000	100	0
Reaktion	schw. alkalisch	schw. alkalisch	schw. sauer

Während Probe I und II dieselbe Tendenz aufweisen wie der in Cunnersdorf gelagerte Kalt- bzw. Edelmist, zeigte die Probe III die Kennzeichen des in Probstheida gewonnenen sauren Gärprodukts. Besonders kennzeichnend sind die für die Zellulosezersetzer angegebenen Werte. Die bei den Gesamtkeimzahlen zu beobachtenden geringen Unterschiede können dadurch entstanden sein, daß während des Transports eine mäßige Vermehrung auch bei dem heißvergorenen Mist nicht ausgeblieben sein wird.

Es erhebt sich nun die Frage, inwieweit der verschiedene Rotteverlauf die Wirkung des Stalldüngers im Boden beeinflußt. Neben vielen anderen hat der Stalldünger die Aufgabe, die Pufferungsfähigkeit des Bodens zu erhöhen, und ist hierzu in hervorragendem Maße befähigt, wie unter anderem ein in Cunnersdorf im Jahre 1929 von G. Barthel[3]) durchgeführter Versuch zeigt:

Teilstuck	Tag der Probenahme				
	8. 4.	15. 6.	15. 7.	15. 8.	15. 9.
Ohne organische Düngung .	5,63[1])	5,67	5,73	6,0	5,47
Edelmist, 8 Mon. gelagert .	5,37	5,89	6,22	6,98	6,34
Schafmist	5,80	6,08	6,62	6,78	6,64
Behelfsm. hergest. Edelmist	5,58	6,10	6,40	7,25	6,09
Edelmist, 6 Mon. gelagert .	5,70	6,13	6,24	7,42	6,44
Hofmist, kalt vergoren . .	5,67	6,03	6,37	7,43	6,22

[1]) p_H-Werte der n/10 KCl-Ausschuttelung.

Es war wichtig, festzustellen, wie die hier erzeugten Düngerarten sich verhielten, insbesondere ob der saure Heißmist Abweichungen zeigte. Zu diesem Zweck wurde in der Zeit vom 29. 11. 1933 bis 10. 1. 1934 ein Gefäß-

[1]) Probe I und II stammten von den Betrieben des Herrn H. Schneider, Saatzuchtwirtschaft Eckersdorf, Kreis Namslau.

[2]) Probe III wurde zur Untersuchung übersandt, da man über die Ursachen der anormalen Rotte Aufklärung suchte.

[3]) G. Barthel, Unters. z. Kenntn. d. Wirkung u. Zusammensetzung versch. beh. Wirtsch.-Dünger. Diss. phil. Leipzig 1931. S. 22.

versuch durchgeführt. In Tontöpfen[1]) wurden 1500 g gute Gartenerde mit 1% der verschiedenen Stalldüngerproben versetzt, die Wasserkapazität wurde zu 60% abgesättigt, das verdunstende Wasser gewichtsmäßig an jedem 2. Tage ergänzt. Die Versuche wurden bei 22° C durchgeführt. Die Bestimmung der Reaktion in den einzelnen Parallelen erfolgte einmal wöchentlich sowohl in der Aufschwemmung mit Wasser als auch mit KCl-Lösung. Die Ergebnisse zeigten indessen so geringe Schwankungen, daß auf eine Wiedergabe der Einzelwerte verzichtet werden kann. In der Tab. 9 wurden daher

Tab. 9. Ergebnisse der Bodenuntersuchungen.

Gefäß	Dungung	Totalaziditat T—S	Gesamtbasengeh. S	Höchstsattigung T	Basensättigungsgrad V	p_H in Aufschwemmung mit	
		Milliäquivalente je 100 g Boden			%	H_2O	KCl
1	Saurer Heißmist	1,74	136,0	137,74	98,74		
2		1,62	130,4	132,02	98,78		
3		1,68	133,6	135,28	98,76		
4		1,98	127,2	129,18	98,47		
5		1,56	144,0	145,56	98,93		
	Mittel:	1,74	134,2	135,94	98,73	7,15	7,24
6	Edelmist Cunnersdorf	1,62	140,8	142,42	98,86		
7		1,62	145,6	147,22	98,83		
8		1,50	148,0	149,50	98,99		
9		1,74	152,0	153,74	98,87		
10		1,62	140,8	142,42	98,86		
	Mittel:	1,62	145,4	147,02	98,89	7,28	7,26
11	Kaltmist Cunnersdorf	2,04	139,2	141,24	98,56		
12		2,04	139,2	141,24	98,56		
13		1,92	146,4	148,32	98,70		
14		1,92	138,4	140,32	98,63		
15		1,98	142,8	144,78	98,63		
	Mittel:	1,98	141,2	143,18	98,61	7,22	7,24
16	Ohne Stalldung	1,98	137,6	139,58	98,58		
17		2,04	140,8	142,84	98,57		
18		1,98	142,4	144,38	98,63		
19		1,98	134,4	136,38	98,55		
20		1,68	129,6	131,28	98,72		
	Mittel:	1,92	136,9	138,82	98,61	7,15	7,21

nur die Durchschnittswerte angegeben, sichere Schlußfolgerungen lassen indessen auch sie nicht zu. Da in erster Linie die hydrolytische Azidität eine beginnende Versauerung anzuzeigen vermag, wurde diese bestimmt, daneben auch der Gesamtbasengehalt, um die Höchstsättigung nach der Formel

$$V = 100 \cdot \frac{S}{T}$$

errechnen zu können[2]). Die Ergebnisse zeigen, daß der saure Heißmist die Reaktion des Bodens zu verschieben beginnt, sowohl Gesamtbasengehalt,

[1]) Die Versuche wurden in 5 Parallelen angesetzt.
[2]) H. Kappen, Die Bodenazidität. 1929. S. 178.

als auch Höchstsättigung sind im Abgleiten begriffen. In Übereinstimmung mit den Versuchen Barthels haben jedoch die beiden normal gerotteten Düngerarten den Boden an Basen bereichert. Beim Edelmist Cunnersdorf ist der Basensättigungsgrad am höchsten. Also auch hier konnte der günstige Einfluß des heißvergorenen Düngers auf die Bodenazidität trotz der kurzen Dauer des Versuchs nachgewiesen werden.

Der verschiedene Verlauf der Rotte bei den einzelnen Düngerarten kommt auch in einer kurzen Übersicht über den Gehalt der Proben an Stickstoff und Trockensubstanz zum Ausdruck (vgl. Tab. 10). Beim Heißmist Probstheida trat eine scheinbare Stickstoffanreicherung ein, die jedoch bei der Umrechnung der Werte auf einen Trockensubstanzgehalt von 25% verschwindet. Sie wurde durch Wasserverdunstung vorgetäuscht. Dieses Ergebnis mußte auch erwartet werden, denn das Material war in keiner Weise verrottet.

Tab. 10. Stickstoffgehalt der Stalldungproben.

Datum	Ammoniakstickstoff %	Wasserlöslicher Stickstoff %	Gesamtstickstoff %	Trockensubstanz %	Bezogen auf einen Trockensubstanzgehalt von 25%		
					Ammoniakstickstoff %	Wasserlöslicher Stickstoff %	Gesamtstickstoff %
			Kaltmist Cunnersdorf.				
Frischm.	0,056	0,078	0,452	19,15	0,073	0,102	0,590
4. 7. 33	0,105	0,119	0,458	16,60	0,158	0,173	0,689
5. 10. 33	0,087	0,101	0,439	18,35	0,118	0,137	0,624
16. 11. 33	0,095	0,089	0,472	17,00	0,139	0,131	0,694
9. 1. 34	0,076	0,087	0,429	18,10	0,105	0,120	0,592
Rand	0,016	0,022	0,722	20,95	0,019	0,026	0,861
Probe v. Feld	0,047	0,074	0,463	16,70	0,070	0,111	0,693
			Edelmist Cunnersdorf.				
20. 2. 33	0,134	0,155	0.500	22,60	0,147	0,171	0,553
4. 7. 33	0,081	0,108	0,528	16,60	0,121	0,162	0,795
4. 10. 33	0,100	0,126	0,535	16,50	0,151	0,191	0,802
16. 11. 33	0,102	0,101	0,603	21,30	0,119	0,118	0,708
9. 1. 34	0,070	0,119	0,578	22.90	0,076	0,129	0,631
Rand	0,006	0,028	0,503	15,40	0,009	0,045	0,816
Probe v. Feld	0,042	0,064	0,553	17,20	0,061	0,093	0,804
			Heißmist Probstheida.				
Frischm.	0,017	0,053	0.393	17,50	0,024	0,076	0,561
26. 7. 33	0,052	0,067	0,732	30,10	0,043	0,056	0,608
12. 9. 33	0,064	0,080	0,612	28,10	0,057	0,071	0,544
26. 10. 33	0,164	0,114	0,576	25,60	0,160	0,111	0,562

Ein Vergleich der Trockensubstanzgehalte der beiden Cunnersdorfer Dungarten zeigt, daß auch hier der heißvergorene Mist infolge der höheren Temperaturen mehr Wasser verdunstet hat. Beim Ausfahren des Düngers wurden geringere Rohgewichte festgestellt. Legte man jedoch den Trockensubstanzgehalt zugrunde, dann ergab sich, wenn die am 9. 1. 1934 ermittelten Werte berücksichtigt werden, beim Edelmist eine geringe Mehrausfuhr an Trockensubstanz.

Verfolgt man den Verlauf der Stickstoffumsetzungen in den beiden Cunnersdorfer Stapeln, so kann man feststellen, daß zu Beginn der Lagerung eine kräftige Ammoniakproduktion einsetzte. Beim Edelmist wurden zwar höhere prozentuale Werte ermittelt, legt man aber einen Trockensubstanzgehalt von 25% zugrunde, so ergeben sich etwa dieselben Verhältnisse wie beim Kaltmist. Für den wasserlöslichen Stickstoff wurden auch bei einem Trockensubstanzgehalt von 25% die höheren Werte beim Edelmist erreicht. Außerdem unterscheidet sich der Edelmist deutlich sowohl vom Kaltmist als auch vom Heißmist durch die Anreicherung von Gesamtstickstoff. Die Randschichten waren sehr stark zersetzt, sie zeigten am Ende der Lagerung einen sehr hohen Gehalt an Gesamtstickstoff wie der Edelmist, aber im Gegensatz zu diesem sehr niedrige Werte für die leicht aufnehmbaren Stickstofformen. Auf dem Felde wird solches Material nur langsam zur Wirkung kommen.

Die Tatsache, daß der Stalldünger beim Ausbringen recht beträchtliche Verluste erleiden kann, wurde zwar wiederholt betont, sie wird aber trotzdem nicht genügend beachtet. Um im vorliegenden Falle einen Anhaltspunkt zu gewinnen, wurden auf dem Felde, nachdem der Dünger gebreitet worden war, noch einmal Proben genommen. Die Untersuchungsergebnisse lassen die Verluste, die der Dünger durch Ammoniakverdunstung erlitten hat, klar erkennen, wenn auch infolge der Unsicherheit der Probenahme auf dem Felde über ihre Höhe keine bestimmten Angaben gemacht werden können. Bei vergleichenden Feldversuchen muß jedoch hierauf Rücksicht genommen werden, denn ein Dünger wird um so größere Verluste erleiden, je mehr Ammoniak er enthält.

Zusammenfassung.

1. Das Ziel der Untersuchungen bestand darin, das Verhalten der anaeroben Bakterien in verschieden behandeltem, lagerndem Stalldünger kennenzulernen.

2. Zu diesem Zweck wurde ein Stapel bei Temperaturen bis 20° C kalt vergoren, ein zweiter wurde nach den Vorschriften der Edelmistbereitung heiß vergoren (Edelmist), bei einem dritten ließ man die Vergärungstemperatur auf 70° C steigen (Heißmist). Die Dauer der Lagerung betrug 10 Monate.

3. Während der Lagerung wurden in Abständen von etwa 3 Monaten Proben entnommen und einer bakteriologischen Prüfung unterzogen.

4. Zur Anreicherung von Kohlehydrat- und Eiweißzersetzern bewährte sich die Verwendung verschiedener Nährböden, insbesondere Eier-Fleisch, Kartoffelbrei und Leberbouillon, nebeneinander.

5. Folgende Stämme wurden isoliert: B. putrificus verrucosus, B. putrificus Bienstock, B. putrificus tenuis, B. cochlearius, B. saccharobutyricus, B. amylobacter, B. tetanomorphus, B. sphenoides und Pectinobacter amylophilum Makrinow.

6. Beim Kaltmist schwankten die Zahlen für anaerobe Organismen zwischen 10 000 und 10 000 000 je Gramm, beim Edelmist wurden während der Lagerung ziemlich regelmäßig etwa 10 000 anaerobe Organismen je Gramm nachgewiesen, während beim Heißmist die Zahlen von 1 000 000 je Gramm im Frischmist am Ende der Lagerung bis auf 10 je Gramm gesunken waren.

7. Die Zahl für die fakultativ anaeroben Organismen lag bei dem Kaltmist und bei dem Heißmist etwa in gleicher Höhe wie die der obligat anaeroben Organismen, beim Edelmist deutlich höher.

8. Die aus dem Heißmist in größerer Zahl isolierten Organismen, Pectinobacter amylophilum und B. sphenoides, wurden auch in eingesäuerten Kartoffeln, wie sie zur Zeit der Düngererzeugung gefüttert wurden, nachgewiesen.

9. Die Zahl der anaeroben Zellulosezersetzer stieg beim Edelmist rascher an als beim Kaltmist, bei letzterem aber höher. Beim Heißmist kam die Zellulosezersetzung bis zum Schluß der Lagerung völlig zum Stillstand.

10. Durch die Heißvergärung wurde die Entwicklung aller Organismengruppen stark beeinträchtigt. Am Ende der Lagerung wurden im Edelmist 93,3% der aeroben Keime als Sporen gefunden, im Kaltmist nur 36,2%, gegenüber 2,15% im Frischmist.

11. Beim Kaltmist bestand nach 10monatiger Lagerung die aerobe Flora zu 30% aus Aktinomyzeten.

12. Durch Vergärung des Stallmistes bei etwa 65° C kann ein einwandfreier Edelmist gewonnen werden, durch Erhitzung des Düngers auf 70° C entsteht ein saurer reagierendes Gärprodukt.

13. Der saure Heißmist bewirkte eine Senkung des Gesamtbasengehaltes im Boden, Kalt- und Edelmist dagegen eine Steigerung.

14. Die Veränderungen, denen der Stickstoff- und Trockensubstanzgehalt während der Rotte unterlagen, bestätigten und ergänzten die Ergebnisse der biologischen Untersuchungen.

Tafelerklärung.

Die photographischen Aufnahmen wurden mit dem für das Zeißsche Mikroskop vorgesehenen Aufsatz „Phoku" mit der Kameralinse L hergestellt.

Vergrößerung (außer Fig. 5) 2000fach.

Fig. 1. Bac. putrificus verrucosus Zeißler.
Fig. 2. Bac. putrificus verrucosus (kettenbildende Form).
Fig. 3. Bac. putrificus tenuis.
Fig. 4. Bac. cochlearius.
Fig. 5. Kolonie von Bac. cochlearius (etwa 40fach vergrößert).
Fig. 6. Bac. saccharobutyricus v. Klecki.
Fig. 7. Bac. saccharobutyricus v. Klecki.
Fig. 8. Bac. amylobacter.
Fig. 9. Bac. tetanomorphus.
Fig. 10. Bac. sphenoides.
Fig. 11. Pectinobacter amylophilum Makrinow.
Fig. 12. Anaerobe Zellulosezersetzer.

Tab. 11. Kaltmist Cunnersdorf.

Organismus	Nahrboden	Frischmist												27. 3. 33												4. 7. 33											
		1 : 100		1 : 1000		1 : 10 000		1 : 100 000		1 : 1 000 000		1 : 10 000 000		1 : 100		1 : 1000		1 : 10 000		1 : 100 000		1 : 1 000 000		1 : 10 000 000		1 : 100		1 : 1000		1 : 10 000		1 : 100 000		1 : 1 000 000		1 : 10 000 000	
		n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.
B. putrificus verrucosus	Kartoffelbrei . .		3					2																													
	Leberbouillon . .					1													1	1				1		+											
	Eier-Fleisch . . .														1				1									1	1								
B. saccharobutyricus	Zuckerlösung . .																																				
	Eier-Fleisch . . .													1		1																					
	Kartoffelbrei . .														1	+	+										+	1		+	+						
	Leberbouillon . .															1																					
B. amylobacter	Zuckerlösung . .			1																																	
	Eier-Fleisch . . .													2		1																					
	Leberbouillon . .																							1													
B. tetanomorph.	Leberbouillon . .			1	+																																
Pectinobacter amylophilum	Zuckerlösung . .	2																																			
	Kartoffelbrei . .		3												1																						
		5. 10. 33												16. 11. 33																							
B. putrificus verrucosus	Kartoffelbrei . .										1																										
	Leberbouillon . .												1																								
	Eier-Fleisch . . .	1	1	1	1		1	1	1	1				+	+	1	1	1		1	1																
B. saccharobutyricus	Eier-Fleisch . . .										1																										
	Kartoffelbrei . .	1	1	1	1		1		1	1				+	+	1	1	1	1	1	1	1															
	Leberbouillon . .											+																									
B. amylobacter	Eier-Fleisch . . .					1								+	+	1	1	1	1	1	1																
	Kartoffelbrei . .							1																													
	Leberbouillon . .																							1													
B. tetanomorphus	Eier-Fleisch . . .	+	+																			+	1														
	Kartoffelbrei . .																																				
Pectinob.amyloph.	Kartoffelbrei . .				1	1																															

Tab. 12. Edelmist Cunnersdorf.

Organismus	Nährboden	Frischmist												20. 2. 33												18. 5. 33											
		1 : 100		1 : 1000		1: 10 000		1 : 100 000		1 : 1 000 000		1 : 10 000 000		1 : 100		1 : 1000		1: 10 000		1 : 100 000		1 : 1 000 000		1 : 10 000 000		1 : 100		1 : 1000		1: 10 000		1 : 100 000		1 : 1 000 000		1 : 10 000 000	
		n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.
B. putrificus verrucosus	Kartoffelbrei . .		3					2										1																			
	Leberbouillon . .					1										1	1														1						
	Eier-Fleisch . . .																									+	+	+	+	1							
B. saccharobutyricus	Zuckerlösung . .	2																																			
	Kartoffelbrei . .														1	1	1																				
B. amylobacter	Zuckerlösung . .			1																																	
	Leberbouillon . .																	1																			
B. tetanomorphus	Leberbouillon . .			1	+																																
Pectinobacter amylophilum	Zuckerlösung . .	2																																			
	Kartoffelbrei . .		3											1						1																	
	Leberbouillon . .															1																					
		21. 8. 33												16. 11. 33																							
B. putr. verrucos.	Leberbouillon . .		+	1		1																															
	Eier-Fleisch . . .			+	1		1							1	1	1	1	+	1	1	1																
B. saccharobutyr.	Kartoffelbrei . .				+									1	1	1	1	+																			
B. amylobacter	Eier-Fleisch . . .													1								+															
	Leberbouillon . .				1															1																	
B. tetanomorphus	Eier-Fleisch . . .													+	+	+	+																				
Pectinob.amyloph.	Kartoffelbrei . .													+		+																					

Tab. 13. Heißmist Probstheida.

Organismus	Nährboden	Frischmist												6. 1. 33												16. 5. 33											
		1 : 100		1 : 1000		1 : 10 000		1 : 100 000		1 : 1 000 000		1 : 10 000 000		1 : 100		1 : 1000		1 : 10 000		1 : 100 000		1 : 1 000 000		1 : 10 000 000		1 : 100		1 : 1000		1 : 10 000		1 : 100 000		1 : 1 000 000		1 : 10 000 000	
		n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.
B. putr. Bienst.	Eier-Fleisch . . .		1													1																					
B. putrificus verrucosus	Kartoffelbrei . .															1	1			1																	
	Eier-Fleisch . . .															1	1		1								1		+								
	Leberbouillon . .																1																				
B. cochlearius	Eier-Fleisch . . .																3																				
B. saccharobutyricus	Eier-Fleisch . . .	2		1																																	
	Leberbouillon . .				1			1																													
	Kartoffelbrei . .						+							1		1		1																			
B. tetanomorphus	Eier-Fleisch . . .	1																								1	1										
	Kartoffelbrei . .																1									+											
B. sphenoides	Eier-Fleisch . . .	1	1		1		1																				1										
	Leberbouillon . .			1	+	+	1																														
Pectinobacter amylophilum	Kartoffelbrei . .	1	1		1																																
	Leberbouillon . .						1			1																											
	Zuckerlösung . .				1																																
		16. 6. 33												17. 9. 33												26. 10. 33											
B. putr. Bienst.	Eier-Fleisch . . .	2																																			
B. putrificus verrucosus	Leberbouillon . .				1																																
	Eier-Fleisch . . .													1																							
B. saccharobutyr.	Kartoffelbrei . .														1																						
B. amylobacter	Eier-Fleisch . . .																	1								1	+										
	Kartoffelbrei . .													1																							
B. sphenoides	Kartoffelbrei . .															1																					
Pectin. amyloph.	Kartoffelbrei . .	1																																			

Zur Kenntnis der stäbchenförmigen Milchsäurebakterienarten. Vorkommen im Menschen und Tier. Ansiedlungsversuche durch Genuß von Milch, Käse und Reinkulturen.

[Bakteriologisches Institut der Preuß. Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, Kiel.]

Auf Grund der gemeinsam mit Elfriede Winnegge ausgeführten Untersuchungen mitgeteilt

von **W. Henneberg.**

Mit 15 Abbildungen im Text.

Die Gruppe der langen Milchsäurebakterien hat seit langem, wie die vielen und umfangreichen Veröffentlichungen der medizinischen und technischen Bakteriologen zeigen, großes Interesse gefunden. Es ist dies besonders darauf zurückzuführen, daß ein Teil dieser Bakterienarten den Darm der Menschen und der warmblütigen Tiere als ständigen Wohnplatz hat. Im Menschen kommen sie vielfach auch im Magen bei Stauungen (Magenerweiterung, Carcinom) und regelmäßig in der Vagina, ebenso oftmals in hohlen Zähnen vor. Aus der Vagina erhält sie bei der Geburt der Säugling, in dessen Darm sie sich ansiedeln. Unter der Bezeichnung „acidophilus“ sind verschiedene Arten eingehender beschrieben worden. Sie finden z. T. bei der Bereitung von Acidophilusmilch („Reformyoghurt“ nach Henneberg) Verwendung. Das sich im Kälbermagen findende Thermobacterium helveticum wird in den Schweizerkäsereien ausgenutzt. Bei der Yoghurtbereitung verwendet man die langen Milchsäurebakterienarten aus dem Lämmermagen, ebenso stammen die Erreger der Milchsäuerung der seit alten Zeiten gebräuchlichen Volksgetränke des Mazuns, Kumys, Lebenraib und dergl. sicherlich aus dem Darm der Kühe oder der Stuten. Aus dem Kuhdarm gelangen sie oftmals in die Milch und so auch in den Käse, aus letzterem wieder beim Käsegenuß in den Menschendarm. Manche Arten finden sich auch in der freien Natur und spielen z. B. bei der Heiß- und Warmeinsäuerung von pflanzlichen Futtermitteln eine sehr wichtige Rolle (Henneberg). Man muß annehmen, daß sich erhitzende, aufeinandergehäufte, verrottende grüne Pflanzen die ursprünglichen Wohnstätten dieser Arten waren. Von hier aus erfolgte die Besiedlung des Darmes usw. der Tiere und des Menschen. Manche, die ein stärkeres Milchsäuerungsvermögen erwarben, wurden ständige Bewohner des Magens der milchtrinkenden jungen Tiere bzw. des Darmes der menschlichen Säuglinge oder Milchpilze und Reifungspilze des Käses.

Diese kurze Übersicht mag genügen, um sich die außerordentlich große Zahl und Verschiedenheit der Wohnplätze der langen Milchsäurebakterien vor Augen zu führen. Es handelt sich also sowohl um Saprophyten als auch um Parasiten bzw. Symbionten. Durch Anpassung an die verschiedenen Standorte mußten eine Unmenge von sich mehr oder weniger unterscheidenden Rassen bzw. „Arten“ entstehen. Dem Bakteriologen macht es z. Zt. oft noch die größte, bisweilen unüberwindliche Schwierigkeit, diese zu trennen, d. h. Arten und Rassen zu erkennen und sie in ein System zu bringen. Eine

Unmenge von Laboratoriumsuntersuchungen wird noch nötig sein, um die Verwandtschaft der Arten untereinander und die jeweilige Stammart nachzuweisen. Verf. ist daher auch heute noch (vgl. Handbuch der Gärungsbakteriologie 1906 u. 1924) der Ansicht, daß es zweckmäßig ist, zunächst „Standortsgruppen“, d. h. die an ein bestimmtes „Milieu“ angepaßten Arten bzw. Rassen, soweit sie gleichzeitig morphologisch und physiologisch ähnlich sind, zusammenzufassen. Die Wahrscheinlichkeit ihrer ursprünglichen Herkunft gibt dann die Arbeitsrichtung für die Untersuchungen der verwandtschaftlichen Beziehungen und der Variationsbreite sowie für das Auffinden weiterer brauchbarer Anpassungen.

Die Untersuchungen, deren bisherige Ergebnisse hier mitgeteilt werden, betreffen besonders die in Milch gut wachsenden und schnell säuernden „Menschen“- und „Kuh“-Milchsäurebakterien und ihre Ansiedlungsfähigkeit im Menschendarm. Der praktische Zweck ist, den Einfluß des Milchtrinkens und des Käseessens auf die Darmflora festzustellen und diejenigen Milchsäurebakterienarten ausfindig zu machen, die zur Bereitung einer möglichst wirksamen Acidophilusmilch (besser Reformyoghurts) am meisten geeignet sind. Möglichst viele verschiedene Käse- und Darmmilchsäurebakterien mußten daher genauer untersucht und verfüttert werden. Eine große Schwierigkeit war, die sich von vornherein vielfach im Menschendarm vorfindenden Arten von den verfütterten zu unterscheiden. Wenn auch die sehr zeitraubenden Untersuchungen noch keineswegs zum Abschluß gebracht werden konnten, so sollen die bisherigen Ergebnisse hier schon mitgeteilt werden, da die Nachprüfungen der Wirksamkeit der Acidophilusmilch an Menschen mit Darmkrankheiten doch nur nach und nach vorgenommen werden können.

Über die in Betracht kommenden Milchsäurebakterien sind bekanntlich schon eine Unmenge von Untersuchungen in allen möglichen wissenschaftlichen Instituten vorgenommen. Nur das allerwichtigste aus der medizinischen und technisch-bakteriologischen Literatur sei hier in Kürze zusammengestellt.

Moro erkannte bereits, daß sich im Säuglingsdarm verschiedene langgestreckte Milchsäurebakterienarten vorfinden. Der von ihm eingeführte Name „B. acidophilus“ (besser Bact. acidophilum) betrifft also eine Sammelgruppe, wie auch schon daraus hervorgeht, daß man mittels der verwendeten sauren oder angesäuerten Nährflüssigkeit sämtliche säurevertragende Milchsäurebakterienarten anreichern kann. In diesem Sinne sind sehr viele acidophil, richtiger acidotolerant. Man hätte sich darüber einigen müssen, welche von den verschiedenen Arten des Säuglingsdarmes als Bact. acidophilum bezeichnet werden soll, da der von Moro reingezüchtete Stamm nicht ausreichend beschrieben wurde. Die Angabe von Cahn und Rodella, daß der B. acidophilus (ebenso wie B. exilis) besonders zahlreich im Darm der mit Kuhmilch ernährten Säuglinge vorkommen soll, sagt nichts, wenn Rohmilch verfüttert wurde, da es sich natürlich auch um Kuhdarmmilchsäurebakterien gehandelt haben kann. Viel wertvoller ist dagegen die Angabe dieser Autoren, daß in Brustmilch-Säuglingen der B. bifidus (besser Bact. bifidum) die Hauptmenge bildet, wenn auch nach unseren Beobachtungen dies nur bisweilen der Fall ist. — Von Heim und Schlirf (1925) wurde die Bezeichnung „Acidobacterium“ für eine Gruppe von langen Milchsäurebakterien, zu der Moroi und aerogenes (Schlirf), lactis und Döder-

leinii (Heim) und bulgaricum gehören, gewählt. Schon vorher (1925) hatte Löwi den Gruppennamen „Plocamobacterium“ (nach den haarflechtenähnlichen Kolonien) vorgeschlagen, der auch in Lehmann und Neumann (7. Auflage 1927) angenommen wurde. Beijerinck und später Bergey wählten die Bezeichnung Lactobacillus, Orla Jensen Thermobacterium bzw. Streptobacterium bzw. Betabacterium. Die jetzigen technischen Bakteriologen folgten zum größten Teil dem Vorschlag des zuletzt Genannten.

Uns interessieren hier zunächst die Beschreibungen der für unsere Untersuchung in Betracht kommenden Arten, wie wir sie in Lehmann-Neumanns Werk finden.

Pl. acidophilum ist mit B. necrodentalis Goadby (1903), mit B. vaginalis minor Maunu af Heurlin (1910) und Acidobact. lactis Heim 1925 identisch. Es sind kürzere und längere Stäbchen, Ketten, auch Fäden von 0,7 μ Breite. Milchzucker, Glykogen usw. werden gesäuert, Milch in 2 Tagen dickgelegt (6. Tag 1% Milchsäure). Lackmusmilch wird erst entfärbt, dann rot. Gasbildung fehlt. Unter 22° kein Wachstum. Gegen Trockenheit sehr wenig empfindlich. Fundort: Stuhl der Neugeborenen in den ersten Lebenstagen, Darm der Erwachsenen, Sauerteig, normales Vaginalsekret, Frauen- und Kuhmilch.

Pl. vaginae (Kruse) ist mit dem Vaginalstäbchen Döderleins, mit B. vaginalis longus M. af. Heurlin, crassus Lipschütz und A. Döderleinii Heim identisch. Die Zellen sind breiter (1,2 μ), zuweilen Involutionsformen. Kolonien bisweilen mit Randausläufern. Traubenzuckerbouillon säuert bis p_H 4. Milch gerinnt nicht, Lackmusmilch bleibt blau. Beständiger Fundort: normales Vaginalsekret (Genaueres s. S. 116).

Pl. Moroi. Zellen wie bei Pl. acidophilum. Kolonien gewöhnlich größer und weißlich. Keine Milchgerinnung. In kariösen Zähnen.

Pl. gastrophilum L. u. N. identisch mit B. Boas und Oppler. Mäßige Säuerung. Oft im Magen bei Stauungen und neben anderen Arten im Darm.

B. exilis Tissier. Kleine dünne, einzelne Zellen oder in Ketten. In Kulturen oft etwas gekrümmt. Im Darm bei Kuhmilchnahrung.

Pl. aerogenes. Zellen wie bei Pl. acidophilum. Keine Milchgerinnung. Gasbildung in Traubenzucker-Leberbouillon. Im Mund, in hohlen Zähnen und im Darm.

Bact. bifidum Tissier. Streng anaerob. Oft Verzweigung mit kugel- oder keulenförmigen Astenden. Milchzucker, Rohrzucker und Malzzucker werden gesäuert. Neben acidophilum im Säuglingsdarm.

Nach den vorstehenden Angaben sind Moroi, gastrophilum und exilis viel zu dürftig gekennzeichnet und nach den betr. Fundorten nicht wiederzuerkennen, da sich hier mehrere Arten zusammenfinden. Pl. aerogenes dürfte mit Betabacterium longum O. Jensen identisch sein. Die Fundortsangaben zeigen, daß acidophilum wiederum eine Sammelgruppe bezeichnet: acidophilum, wenn ohne Volutin, und lactis (Heim), wenn mit Volutin, sind sicherlich verschiedene Arten. Acidophilum und exilis sind von keinem Milchbakteriologen in der Kuhmilch gefunden. Eine Abgrenzung des acidophilum vom vaginae nur nach Zellbreite und Milchdicklegung ist ganz unmöglich.

Stäbchenförmige Menschen- und Kuhdarm-Milchsäurebakterien finden sich unter den Thermo-, Strepto-, Beta- und Mikrobakterien. Sehr wahrscheinlich ist, daß Acidob. lactis, wenn mit Volutin, mit dem Thermob. lactis, B. exilis mit Streptob. casei oder plantarum und Pl. aerogenes mit Betab. longum identisch sind. Die von uns im Darm beobachteten stäbchenförmigen Milchsäurebakterien sind aus den unten folgenden Mitteilungen zu ersehen.

Eigene Untersuchungen.

I. Untersuchungsmethoden.

Zum Nachweis der Art des Wachstums ist die Federstrichmethode nicht zu entbehren[1]). Man kann auf diese Weise leicht erkennen, ob mehr oder weniger Kettenbildung oder diffuses Wachstum, ob kürzere oder längere Fäden, Verschiedenheiten in der Breite oder Involutionsformen auftreten. Diese Methode gestattet auch, vorausgesetzt, daß nicht neutralisierte, d. h. natursaure Würze (p_H 5,6) benutzt wird, eine sehr sichere Entscheidung, ob und wieviel und auch annähernd welche Milchsäurebakterienarten in den Fäzes vorhanden sind, da coli usw. nicht oder nur wenig in diesem sauren Boden wachsen kann. Erwähnt sei auch hier als sehr brauchbar die von Henneberg vorgeschlagene Deckglas-Petrischalenmethode. Unverdünnt und in verschiedener wässeriger Verdünnung wird z. B. an vier verschiedenen Stellen von etwa Deckglasgröße je eine Öse von den Fäzesproben auf der Chinablau-Milchzuckerbouillonagar-Oberfläche und gleichzeitig auf Pepton-Molkeagar und ebenso auf Würzeagar — meist genügt der zuerst genannte Chinablauagar — in Petrischalen verrieben und mit je einem sterilisierten Deckglas bedeckt. Mit dem Mikroskop lassen sich zunächst mit einem schwächeren Objektiv, dann mit der Ölimmersion die bereits nach 24 Std. bei 30—37° unter dem Deckglas gewachsenen Kolonien leicht durchmustern. Auf natursaurem Würzeagar wachsen auch hier in den Fäzes-Präparaten Colibakterien nicht oder nur wenig, so daß die Anwesenheit verschiedener Milchsäure-Bakterienarten leicht festgestellt werden kann. Diese wachsen unter den vorliegenden, fast anaeroben Bedingungen ganz besonders gut. Handelt es sich um mit Chinablau gefärbten Milchzucker-Bouillonagar oder dgl., so erkennt man die säuernden Kolonien sogleich an der tiefblauen Färbung unter dem Deckglas. Das Herausfinden der Milchsäurebakterienkolonien auf Traubenzucker- bzw. Milchzuckerbouillonagar-Petrischalen zur Reinzüchtung wird durch Chinablau-Zusatz außerordentlich erleichtert.

Als Nährflüssigkeiten sind Gerstenmalzmaische ohne oder mit Kreide (letzteres für Dauerzüchtungen), Roggenschrotabkochungen, Peptonmolke, Milch mit 1% Pepton- oder Hefeextraktzusatz sowie Bouillon oder Leberbouillon mit Leberstückchen und 1% Zuckerzusatz (d. h. Tarozzibouillon) am günstigsten. Zu hoch oder zu lange erhitzte, d. h. bräunlich gewordene Milch ohne Zusätze erwies sich in vielen Fällen als völlig unbrauchbar. Zweckmäßig ist, frische, aseptisch gewonnene Milch einmal kurz aufzukochen oder gewöhnliche Milch wiederholt bei 90° zu pasteurisieren. Solche Milch in flacher Petrischale war zum Nachweis von Diazetylbildung bei Milchsäurebakterien usw. durch den Geruchsinn gut geeignet. Gasbildung läßt sich am besten in Maische und oft auch in der geronnenen Milch erkennen.

Sehr wichtig zur Erkennung mancher Arten ist das Vorhandensein oder Fehlen von Volutin. Notwendig ist die Prüfung an verschieden alten und unter verschiedenen Ernährungs- und Temperaturverhältnissen gewachsenen Zellen.

Das Säuerungsvermögen muß in unsicheren oder besonders wichtigen Fällen unter verschiedenen Bedingungen (s. u.) geprüft werden.

---

[1]) Vgl. Hennebergs „Bakteriologische Molkereikontrolle". Verlag Parey-Berlin 1934.

O. Jensen fand z. B. bei verschiedener N-Ernährung (Witte-Pepton bzw. Kaseïn-Pepton) bei Streptob. plantarum ein sehr abweichendes Verhalten bestimmten Zuckerarten u. dgl. gegenüber.

II. Untersuchungsergebnisse.

Morphologisches.

Das Gemeinsame der untersuchten Arten bzw. Rassen ist die mehr oder weniger langgestreckte Form. Diese ist oftmals je nach den Züchtungsbedingungen sowohl der Länge als auch der Breite nach bei der gleichen Art äußerst verschieden. So finden sich z. B. ganz allgemein in der ersten Federstrichreihe, d. h. bei großer Einsaat, kleinere Abmessungen als in der dritten, in bezug auf Einsaat am meisten verdünnten und daher mehr Nahrung enthaltenden Reihe, wo bei manchen Thermobakterienarten lange, scheinbar ungegliederte Zellfäden charakteristisch sind. Gleichzeitig sind hier in vielen Fällen am meisten Involutionsformen ausgebildet, offenbar ein Zeichen von gehemmtem Wachstum infolge einer in ihrer Zusammensetzung nicht ganz ausreichenden Nährlösung. Es sei besonders erwähnt, daß gar nicht selten das Wachstum mancher frisch eingefangener Stämme von Anfang an äußerst schlecht ist oder sogar ganz ausbleiben kann. Wir müssen annehmen, daß es sich hierbei um besonders empfindliche Stämme, die den plötzlichen Nahrungswechsel nicht überstehen, handelt. Oft gingen bestimmte Stämme, obwohl sie wie alle übrigen behandelt wurden, nach einiger Zeit ohne ersichtliche Ursache ein. Schon aus diesem Grunde müssen bei der Reinzüchtung stets mehrere Parallelstämme eingefangen werden. Sie brauchen sich bei der Fortzüchtung und bei den verschiedenen Untersuchungen durchaus nicht ganz gleich zu verhalten. Im allgemeinen läßt sich nach den Federstrichpräparaten-Befunden folgendes sagen:

Thermobakterien. Meist lange, dünne, bei guter Nahrung oder langsamem Wachstum etwas dickere Zellen. Keine ausgesprochene Kettenbildung. Wo größere Verbände zuerst vorhanden sind, zerfallen sie leicht in oft spitzwinklig zueinanderliegende Kettenstücke. Wachstumsoptimum etwa 37—42°. Milch ist (Th. cereale ausgenommen) z. T. sehr günstig.

Betabakterien. Meist kürzere oder längere Langstäbchen, keine längere Kettenbildung bei B. longum. Wachstumsoptimum 40° (longum) bzw. 37° (breve). Milch oft ungünstig.

Streptobakterien. Meistens kürzere Formen in deutlichen, oft sehr langen Ketten. Am Tröpfchenrand durch Kettenzerfall oftmals Zellhaufen. Wachstumsoptimum 30—37°. Milch ist günstig.

Physiologisches.

Volutin. Seit langem ist bekannt, daß für manche stäbchenförmige Milchsäurebakterienarten ein Volutingehalt, dessen Menge von der Ernährung und den Temperaturverhältnissen abhängt, charakteristisch ist. Wir können hiernach im Yoghurt das volutinhaltige Th. bulgaricum (O. Jensen) von dem volutinlosen Th. Jugurt, ebenso das volutinhaltige Th. lactis in der Milch (oftmals von Henneberg in der Marktmilch gefunden) und im Käse von den volutinlosen Streptobakterien ohne weiteres unterscheiden. Es ist von Wichtigkeit, daß von uns Volutinbildner im Kuhpansen, im Kälbermagen, im Säuglingsdarm (3 mal) und von G. Henneberg auch bei einem Vaginalstäbchenstamm nachgewiesen

wurden. In den ersten beiden Fällen handelt es sich um das Th. lactis, im Säuglingsdarm um 3 „Acidophilus"-Arten (S_1, S_2, S_3 aus je einem Säugling), die teils zur „Vagina"-Gruppe (S_1), teils zur „Th. lactis"-Gruppe zu stellen sind. Sehr beachtenswert ist, daß sich die „Volutin-Säuglingsstäbchen" bisher als die kräftigsten und dauerhaftesten (S_1 seit 1926, die übrigen seit 1930) „Acidophilus- besser Reform-Yoghurtpilze" bewährt haben. Auch die aus Amerika erhaltenen 2 Stämme (S_4 und S_5) enthielten Volutin, was wohl ebenfalls auf die dortige gleiche Feststellung zurückzuführen sein dürfte. Für Verfütterungsversuche (s. u.) bewähren sich wegen ihrer leichten Wiedererkennbarkeit die Volutinbildner sehr gut.

Milch-Säuerung. Manche Arten, wie Thermob. bulgaricum, Jugurt, lactis, helveticum, legen bei Optimaltemperatur die Milch in 3—24 Std. dick. Langsamer, erst in 2—9 Tagen, ist dies bei den beiden Streptobakterien der Fall. Die volutinbildenden Säuglingsdarmstämme bringen meist in 24 Std. die Milch zur Gerinnung. Die Betabakterien können Milch nur nach Peptonzusatz in 2—7 Tagen dicklegen, doch bleibt auch dann bei manchen Stämmen die Gerinnung aus. Microbacterium lacticum bringt mit Ausnahme mancher Stämme Milch in 3—8 Tagen zur Gerinnung, Microb. mesentericum niemals nach O. Jensen und ebenso auch nach A. Wittern nicht nach Peptonzusatz. Wiederholt wurde von uns beobachtet, daß manche Stämme Lackmusmilch nicht veränderten, obwohl sie Milch langsam dicklegten. Es gibt auch im Zuckersäuerungsvermögen („Zuckerreihe", worunter auch manche Alkoholarten und Glukoside zu verstehen sind) und in bezug auf Milchdicklegung „schwache" Stämme, die als atypisch zu gelten haben (s. u.).

Milch ohne und mit 1% Traubenzucker-Zusatz. Es wurde oftmals beobachtet, daß manche Darm-Stämme in reiner Milch nur sehr langsam eine Säuerung bis zur Gerinnung verursachen. In einer Versuchsreihe war daher der Einfluß von Traubenzuckerzusatz (37°) zu prüfen. Bei S_6, S_{18} wurde durch Zucker die Dicklegung um 2 Tage (2 : 4 Tage), bei S_{15} um 1 Tag (3 : 4 Tage) beschleunigt. Der Stamm S_{17} brachte die Milch überhaupt nur nach Zuckerzusatz (2 Tage) zur Gerinnung. Vaginastamm V_8 ließ die Milchgerinnung mit und ohne Zucker gleichzeitig am 2. Tag eintreten.

Maximaltemperaturen für die Milchdicklegung. In Parallelreihen wurden Thermob. bulgaricum, helveticum Streptob. casei (Stamm 1), aus der Vagina 3 Stämme (V_6, V_7, V_8), aus dem Säuglingsdarm an Volutinbildnern S_2, S_4, an Nichtvolutinbildnern S_6, S_{15}, S_{17}, aus dem Darm Erwachsener E_1, E_3, E_5, E_6a bei 37, 45 und 50° in Milch, in Milch mit Hefeautolysat (Reinkulturhefe, unerhitzt) und in Milch mit Leberstückchen untersucht.

50° Gerinnung der Milch nach
- 1 Tag: helveticum, bulgaricum.
- 2 Tagen: Streptob. casei (St. 1), S_2. Leberzusatz S_{15}, S_{17}, E_3, V_6, V_8.

45° Gerinnung der Milch nach
- 1 Tag: helveticum, bulgaricum, Streptob. casei; S_2, S_4, V_8, E_5, Leberzusatz S_6.
- 2 Tagen: Leberzusatz S_{15}, S_{17}, E_1, E_3, E_6a, V_6.
- 4 Tagen: S_6, V_6; Hefeautolysat S_{15}, S_{17}, E_1, V_6; Leberzusatz V_7.

37°
- 1 Tag: helveticum, bulgaricum, Streptob. casei; S_2, S_4.
- 2 Tagen: V_8, E_5; Leberzusatz V_6.
- 4 Tagen: S_6, V_6.

	Arabinose	Xylose	Rhamnose	Galaktose	Mannose
Thermobacterium helveticum	—	—	—	+	+
lactis	—	—	—	+	(+)
bulgaricum	—	—	—	+	(+)
Jugurt	—	—	—	+	+
Streptobacterium casei	— (+)	— (+)	+	+	+
plantarum	+ (—)	(+)	(+)	+	+
Betabacterium breve	+	+	— (+)	+	(+)
longum	— (+)	+	— (+)	+	(+)
Vaginalstämme ohne Volutin:					
V_8	—	—	—	+	+
7 andere V-Stämme	2 +	1 —	7 —	7 +	4 +
	5 —	6 —			3 —
Säuglingsdarm-Stämme mit Volutin:					
S_1	—	—	—	+	+
S_2	+ (—)	—	—	+	+
S_3	+ (—)	—	—	+	+
S_4	—	—	—	+	+
S_5	—	—	—	+	+
Säuglingsdarm-Stämme ohne Volutin:					
S_6	—	—	+	+	+
S_7	—	—	—		+
S_8	+	—	—		+
S_9	—	—	—		+
S_{10}	+	+	—		+
S_{11}	+	—	—	+	+
S_{12}	+			+	+
S_{13}	+	—	—	+	+
S_{14}	+		(+)	+	+
S_{15}	—	—	—	+	+
S_{16}	+	—	—	+	—
S_{17}	—	—	—	+	+
S_{18}	—	—	—	+	+
Darmstämme aus Erwachsenen:					
E_1	—	—	+	+	+
E_2	+	—	—	+	+
E_3	—	—	—	+	+
E_4	—	—	—	+	+
E_5	—	—	—	+	+
E_6	(+)	—	(+)	—	—
E_7	(+)	—	(+)	—	—
E_8	+	—	(+)	+	+
E_9	+	—	(+)	+	+
E_{10}	+	—	(+)	+	+
E_{11}	+	—	(+)	+	+
E_{12}	+	+ (—)	(+)	+	+
E_{13}	—	—	—	+	+
E_{14}	—	—	—	+	+
Lieferantenmilch:					
M_1	— +		— (+)	+	—
M_2	— +		— (+)	— +	—
M_3	— +	—	— (+)	+	(+) —
M_4	+		— (+)	+	(+) —
Käse:					
K_1	—		—	+	+
K_2	— (+)		—	+	+
K_3	— (+)	—	—	+	+
K_4	(+)	—	+	+	+

Rohrzucker	Malzzucker	Milchzucker	Raffinose	Inulin	Dextrin	Stärke	Glyzerin	Mannit	Sorbit	Salizin
—	+	+	(+)	—	(+)	(+)	(+)	—	—	(+)
+	+	+	(+)	(+)	(+)	—(+)	— +	—(+)	—	(+)
—	—	+	(+)	—	—	—	—	—	—	—
—	—	+	+	—	—	+	—(+)	—	—	—
+(—)	+	+(—)	+	(+)	(+)	—(+)	(+)	+	+	+
+(—)	+	+	+(—)	(+)	+	(+)	(+)	(+)	(+)	+
(+)	+	+		—	(+)	—(+)	—(+)	— +	—	—(+)
+	(+)	+	+	—	(+)	—(+)	—	—	—	—
	+									
+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+
7 +	7 +	5 +	1 +	3 (+)	6 +	7 +	7 —	7 —	7 —	7 +
		1 —(+)	6 (+)	1 —	1 —					
		1 —		3?						
+	+(—)	+	—	+	+(—)	+(—)	—	—	—	—
+(—)	+	+	+(—)	+	+(+)	(+)	+(—)	(+)	—	(+)
+(—)	+(—)	+	—	+	+(—)	—	—(+)	(+)	—	(+)
+(+)	+	+	+	+	+(—)	+(—)	—	—	—	—
+(—)	+	+	+	+	+(—)	+(—)	—	—	—	(+)
+	+(+)	+	—	+	+	+	+	+	+	(+)
+	+	+	—	+	+	—	—	—	—	
+	+	+	—	+	+	—	—	—	—	
+	+	+	—	+	+	—	—	—	—	
+	+	+	—	+	+	—	—	+	—	
+	+	+	(+)	(+)	+	+	(+)	—	—	+
+	+	+	(+)		+	+	(+)		—	+
+	+	+	(+)	(+)	+	+	(+)	—	—	+
+	+	+	(+)		+	+	(+)	(+)	—	+
+	+	+	(+)	—	+	+	—	—	(+)	+
—	(+)	(+)	+	—	—	—	—	—	—	—
+	+	+	(+)	—	—	+	—	—	—	+
+	+	+	—	—	+	+	—	—	—	(+)
+	—	+	—	—	(+)	+	+	—	—	+
+	—	+	+	—	+	+	+	—	—	+
+	+	+	—	(+)	+	+	—	—	—	+
+	+	+	—	—	(+)	—	—	+	—	—
+	+	+	+	—	—	—	(+)	+	—	—
—	+	—	+	—(+)	—	—	—	—(+)	—(+)	—
+	+	(+)	(+)	—	(+)	—	—	(+)	—(+)	—(+)
+	+	+	+	+	—	(+)	+	+	(+)	+
+	+	+	+	—	(+)	+	(+)	+	—	+
+	+	+	+	—	+	+	(+)	(+)	—	+
+	+	+	+	—	(+)	(+)	+	+	—	+
+	+	+	—	—	+	+	+	+	—	+
+	+	+	—(+)	+	+	+(—)	—	—	—	+
+	+	+	—	+	—	—	—	—	—	+
— +	— +	(+)	—		—	—	—	—(+)	—	—(+)
+	— +	(+)	—(+)		—	—	—	—(+)	—	—(+)
— +	+	+	—(+)	—	—(+)	—	—(+)	— +	+	(+) +
+	+	+	(+)		—	—	—(+)	+	+	+
(+)	—(+)	+	—(+)		—	—	—	—	—	—
+	+	+	—(+)		—(+)	— +	— +	—	—	— +
+	+	+	—(+)	+	—(+)	— +	— +	—	—	— +
+	+	+	(+)	(+)	+	+	—	+	—(+)	—

Es ist bemerkenswert, daß in Milch ohne Zusatz bei 37° innerhalb von 4 Tagen S_{15}, S_{17}, E_1, E_3, E_6a und V_7 nicht säuerten. Für eine „Acidophilus-Milchbereitung“ sind zur Vermeidung von Sporenbildner-Infektionen nur die Arten zu benutzen, die in 24 Std. die Milch dicklegen. Nach vorstehenden Versuchen würden S_2, S_4, V_8, E_5 geeignet sein.

Gasbildung. Bei vielen Darm-Stämmen (z. B. bei S_6, S_8, S_9, S_{10} — nicht bei S_7) kann man in der dickgelegten Milch deutlich Gasblasen wahrnehmen. Regelmäßig wurden daneben auch Maischekulturen, in denen nach Hennebergs Beobachtungen die Gasbläschen z. T. zwischen den Treberteilchen festgehalten und infolgedessen leicht erkannt werden können, zum Nachweis von Gasbildung hergestellt. Während die eben genannten Stämme in Maische kein Gas erzeugten, bildeten die Stämme S_{11}, S_{13}, S_{14}, ebenso die Käsestämme K_1, K_2, K_3 deutlich Gas.

Kaseinabbau. Der Kaseinabbau ist bei allen Thermobakterien, mit Ausnahme des Thermob. cereale, sehr deutlich, bei den Säuglingsdarmstämmen meist sehr stark. Ebenso verhält sich Streptob. casei, während Streptob. plantarum nach O. Jensen in der Regel nicht abbaut. Manche Stämme des Betabact. breve und des Microbact. lacticum greifen Kasein an, dagegen Betabact. longum und Microbact. mesentericum nicht (O. Jensen). Ein Kaseinabbau auf Milchagar-Petrischalen ist nach unseren Beobachtungen oftmals nur dann deutlich, wenn rohe, an Euterkokken sehr arme oder freie, aseptisch gewonnene Milch mit sterilisiertem Wasseragar vermischt wurde und „Riesenkolonien“ (d. h. Auftragung einer Aufschwemmung vom Zentrifugatbodensatz) der betreffenden Bakterien angelegt werden.

Zuckerreihe (siehe die Tabelle). Zum Vergleichen mußten die von O. Jensen und früher z. T. unter anderer Bezeichnung von Henneberg untersuchten Arten berücksichtigt werden.

Von uns konnte festgestellt werden, daß oftmals verschiedene Ergebnisse erzielt wurden in mit Lackmus gefärbtem Hefewasser mit den zu prüfenden Zuckerarten usw. und anderseits in mit Chinablau gefärbtem Bouillonagar mit den gleichen Zusätzen in flacher Schicht (Petrischalen) bzw. in hoher Schicht (Reagenzgläser). Der Säuerungsnachweis in flacher Schicht erscheint wegen des bei zu reichlichem Luftzutritt geringen Wachstums mancher Arten oftmals unsicher. Auch mittels der von Henneberg abgeänderten Lindnerschen Kleingärmethode in mit Vaselin und Deckglas verschlossenen hohlen Objektträgerkulturen (zuckerfreies Hefewasser bzw. Bouillon mit den betr. Zuckerzusätzen und einem Zusatz von Lackmus oder sterilisierter Kreide) konnten oftmals, d. h. wenn mit einer genügend großen Bakterienmenge — Zentrifugatbodensatz — geimpft war, bei Wiederholung gleichartige, d. h. brauchbare Ergebnisse erhalten werden. Unsicher blieb eine Säuerung, wenn die Lackmusfarbe sich durch Reduktion entfärbte: Man wird diese Sparmethode meist nur bei sehr teuren Zuckerarten usw. anwenden (s. unter Glykogensäuerung).

Bei der Bestimmung des Säuerungsvermögens muß, wie auch von verschiedenen Verff. gefordert wird, die Art der längeren Vorzüchtung genau beachtet werden. Notwendig ist es also, einen Stamm sogleich nach der Reinzüchtung und später nach längerer Weiterzüchtung unter geeigneten „bekannten“ Bedingungen wiederum in der Zuckerreihe“ zu prüfen (s. u.). Wir stehen auf Grund unserer langjährigen Erfahrungen heute auf dem Standpunkt, daß trotz mancher Unsicherheiten die „Zuckerreihe“ zur Arten-

bestimmung ebenfalls unbedingt notwendig ist. Natürlich dürfen hierbei kleine Unterschiede nicht bewertet werden. Man wird nämlich oftmals beobachten, daß aus ein und derselben Herkunft von der gleichen Petrischale gleichzeitig verschiedene Stämme mit etwas abweichendem Zuckersäuerungsvermögen, aber mit sonst gleichen Eigenschaften, reingezüchtet werden. Auf diese Weise kann man ein Bild von der Variationsbreite unter scheinbar gleichen natürlichen Verhältnissen erhalten. Im allgemeinen werden stark säuernde Stämme ein viel „sichereres“ Verhalten in der Zuckerreihe ergeben als schwach säuernde (mit vielfach eingeklammerten +- und — - Zeichen). Da letztere bei längerer Laborzüchtung gar nicht selten verhältnismäßig bald absterben, sollte man solche künftig als „unnormale“ Stämme bei der Artentrennung unberücksichtigt lassen. Wenn z. B. Galaktose und Mannose, die wie Glukose und Lävulose von sämtlichen „normalen“ Stämmen gesäuert werden, bei einem oder dem anderen Stamm derselben Herkunft keine Säuerung zeigen (in 3 Fällen auf der Tabelle), so zeigt dies nach unserer Ansicht, daß auch die übrigen Befunde in der Zuckerreihe bei diesen Stämmen nicht als normal zu bewerten sind.

Maltosesäuerungsvermögen. Druckrey hat die Behauptung aufgestellt (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 74. 1928), daß sich nur die Milchsäurebakterienarten mit Maltosesäuerungsvermögen im Menschendarm ansiedeln können. Thermob. bulgaricum (O. Jensen) und Th. Jugurt ohne Maltosesäuerung würden sich also im Gegensatz zu Th. helveticum, lactis, Streptobakterium, Betabakterium und den als „Säuglingsdarmstämme“ und „vaginae“ beschriebenen Arten bzw. Rassen nicht anzusiedeln vermögen. Auch in dieser Hinsicht interessierte daher die Frage, ob bei langer Züchtung in einem maltosefreien Nährboden das Maltosesäuerungsvermögen erhalten bleibt. 3 während 7 Jahren dauernd in Milch mit Pepton- und Kreidezusatz fortgezüchtete Stämme S_1, S_4 und S_5 konnten diesen Zucker noch säuern. Im April 1930 aus 2 Säuglingen gezüchtete Stämme S_2 und S_3 (beide Volutin und etwas Gas in Maische bildend) mit Maltosesäuerung wurden ebenfalls längere Zeit in Milch mit Pepton- und Kreidezusatz weitergezüchtet. Nach 1 Jahr 9 Monaten säuerte S_2 nur wenig, S_3 nicht mehr Maltose, nach weiteren 1 Jahr 2 Monaten ergab sich der gleiche Befund. — Ein im November 1930 aus einem Säugling gezüchteter Stamm S_6, der anfangs Maltose stark säuerte, zeigte nach 2 Jahren 4 Monaten nur noch ein sehr geringes Maltosesäuerungsvermögen.

Sämtliche genannten 6 Stämme wurden vor der Prüfung im März 1933 in Milch mit Maltosezusatz zunächst 4 mal übertragen, um das Maltosesäuerungsvermögen bei S_1, S_2, S_6 zu verstärken bzw. bei S_3 wieder hervorzurufen. Tatsächlich säuerten sämtliche 6 Stämme jetzt sehr stark Maltose. Dies war auch später noch der Fall, obwohl 3 Wochen lang die Kulturen in Milch ohne Maltosezusatz weitergezüchtet wurden. Der gleiche Versuch wurde an 11 aus Originalyoghurt (aus Bulgarien und Türkei sowie aus deutschem Trinkyoghurt verschiedener Herkunft) reingezüchteten Stämmen Th. bulgaricum (Orla Jensen) (mit Volutin) wiederholt. Anfangs säuerten 8 Stämme nicht, 2 Stämme (5 und 6) wenig und 1 Stamm (1) stark Maltose. Nach 4 maliger Übertragung in Milch mit Maltose säuerten 10 Stämme stark Maltose, nur Stamm 8 wenig. Die Weiterzüchtung geschah während 3 Wochen (an jedem 3. Tag übertragen) in Milch ohne Maltose. 9 Stämme säuerten jetzt nicht mehr Maltose, nur 3 Stämme (3, 4, 6) noch etwas. Es sei erwähnt, daß die Th. lactis- und Streptobacterium

casei-Stämme trotz jahrelanger Fortzüchtung in Milch (ohne Maltose) stets Maltose säuerten.

Rohrzucker-, Dextrin- und Stärke-Säuerungsvermögen. Anfangs hatten die Säuglingsdarmstämme S_1, S_4, S_5 diese 3 Kohlehydrate gut gesäuert. Nach 6 Jahren Weiterzucht in Milch mit Pepton und Kreide säuerten sie Dextrin und Stärke nicht mehr, aber noch Rohrzucker. S_2 und S_3 säuerten gleich nach der Reinzuchtung keine Saccharose, dagegen Dextrin. Nach 1 Jahr 9 Mon. — in Milch mit Pepton und Kreide — wurde von beiden Saccharose und nur von S_3 Dextrin gesäuert. Die Anpassung an Rohrzucker- und Dextrinsäuerung wurde entsprechend der oben mitgeteilten Maltoseversuche in Milch mit den betr. Zusätzen versucht. Die Säuglingsdarmstämme säuerten nun beide Kohlehydrate wieder. Nur 3 der obengenannten Bulgaricusstämme (3, 4, 6) lernten auf diese Weise Rohrzucker säuern; es waren die gleichen Stämme, die das Maltosesäuerungsvermögen länger behielten, also zur Gruppe des Th. lactis gehören müssen (s. u.). Keiner der 11 Bulgaricusstämme lernte durch die genannte Behandlung Dextrin säuern.

Glykogensäuerung. Für die Vaginae-Gruppe ist von einigen Verff.n wie auch von G. Henneberg eine Glykogensäuerung nachgewiesen, was in Hinsicht auf das Vorhandensein von Glykogen in der Vagina von großem Interesse ist. Von uns wurde geprüft, ob auch der Volutinbildner S_2 aus dem Säugling und Streptob. casei (St. 1) Glykogen zu säuern vermögen. Um mit dem Material sparen und das Glykogen in nichterhitztem Zustand anwenden zu können, kam versuchsweise die Kleingärmethode mit Lackmus oder Kreide (nach Henneberg) im hohlen Objektträger zur Verwendung. Der geprüfte Vaginastamm (V_8, ebenso 3 andere) zeigte sowohl in Hefewasser als auch in Bouillon, der Säuglingsstamm S_2 nur in Hefewasser deutlich rote Färbung, d. h. Säuerung. Das Streptobacterium säuerte nirgends, entfärbte aber die Lackmusfarbe. Sehr beachtenswert ist, daß auch die Erwachsenenstämme E_2, E_3 und E_3a und ebenso die Säuglingsstämme S_5 und S_{15} nach der Hohlkammermethode Glykogen (Hefewasser + 2% Pepton + 2% Glykogen) säuerten. Vielleicht lassen sich hierdurch die ursprünglichen Vaginastämme erkennen. Um die Sicherheit der Hohlkammermethode zu kontrollieren, wurden sämtliche übliche Zucker- und Kohlehydrat-Alkoholarten neben Salizin in der Hohlkammer mit Kreidezusatz gleichzeitig mit der Reagenzglasmethode (Hefewasser + Pepton + Lackmus) und der Chinablauagar-Methode (hohe Schicht im Reagenzglas) geprüft. Bei Streptobacterium casei (St. 1) fand sich 13 mal (von 18) eine Übereinstimmung aller 3 Versuchsmethoden, 5 mal versagte die Hohlkammermethode. Die Ergebnisse im letzteren Fall sind demnach nicht immer sicher.

Säure- und Alkalitoleranz. In Leberbouillon mit Leber und 1% Glukose, sog. Tarozzibouillon, mit p_H 5,4, 6,6, 7,6 und 8,8 wurden 10 verschiedene Stämme nach 24 Std. bei 37° auf ihr Wachstum geprüft. In allen Fällen war es gleich gut bei Strept. casei (Str. 2) und bei S_2. Nur Th. bulgaricum und helveticum wuchsen nicht mehr bei 8,8, die übrigen schlechter als bei 7,6. Sämtliche Säuglingsdarmstämme S_2, S_4, S_6, S_{17}, Erwachsener-Darmstamm E_3, Vaginastamm V_8, Streptob. casei Str. 1 und die bereits genannten wuchsen sehr gut bei p_H 5,4 und 6,6. Bei 7,6 war gutes Wachstum nur noch bei S_2, S_4, S_6, S_{17}, V_8 und den beiden Strept. casei.

Milchsäurebakterien der Kälber und der Kühe, der Milch und des Käses.

Stäbchenförmige Milchsäurebakterien sind sehr häufig, wenn auch nicht in größerer Menge in der Milch, dagegen regelmäßig und in manchen Arten in sehr großer Menge im Käse. Es handelt sich in den meisten Fällen um



Abb. 1. Thermobacterium lactis.



Abb. 2. Streptobacterium casei.

Thermobacterium lactis (Abb. 1), Streptobacterium casei (Abb. 2) und plantarum, seltener um Betabacterium breve und longum (Abb. 3) sowie um Microbacterium flavum und lacticum. In der obigen Zuckerreihentabelle wurden diese zum größten Teil berücksichtigt. Um für unsere vergleichenden Untersuchungen frische Stämme zu haben, wurden nochmals 4 Stämme aus Milch, und zwar je 2 von 2 Lieferantenmilchproben der Versuchsmeierei M_1, M_2—M_3, M_4, ebenso 4 Stämme aus Käse und zwar 3 — K_1, K_2, K_3 — aus dem gleichen „Frühstückskäse" (mit Limburgeraroma) und 1 Stamm K_4 aus Emmentaler genauer untersucht. Die 4 Milchstämme müssen zur Gruppe des Streptobakterium gerechnet werden, da sie ohne Volutin sind, wenigstens in 2 Fällen, M_1 und M_4, ausgesprochene Zellketten und eine ausreichende Übereinstimmung mit der Zuckerreihe des Streptob. aufweisen. Die Kettenbildung ist nach unseren Erfahrungen bei manchen Stämmen — wie auch bei M_2 und M_3 — weniger deutlich. Die 3 Käsestämme K_1, K_2, K_3 enthielten Volutin.



Abb. 3. Thermobacterium helveticum und Betabacterium longum.

waren ohne Ketten und zeigten mit Thermobact. lactis in der Zuckerreihe große Übereinstimmung. Eine völlige Übereinstimmung auch bei Kulturen aus einem und demselben Käse findet sich nach unseren Erfahrungen fast niemals. Der Emmentalerstamm dürfte ebenfalls ein Thermobact. lactis sein.

Herkunft der Milch- und Käsebakterien (Abb. 4). In den allermeisten Fällen stammen die stäbchenförmigen Milchsäurebakterienarten aus dem Kuhkot, nur in den Emmentalerkäsereien sät man absichtlich das aus dem Kälbermagen stammende Thermob. helveticum (als Reinkultur oder Anreicherung) in die zu verkäsende Milch (Abb. 3). Handelt

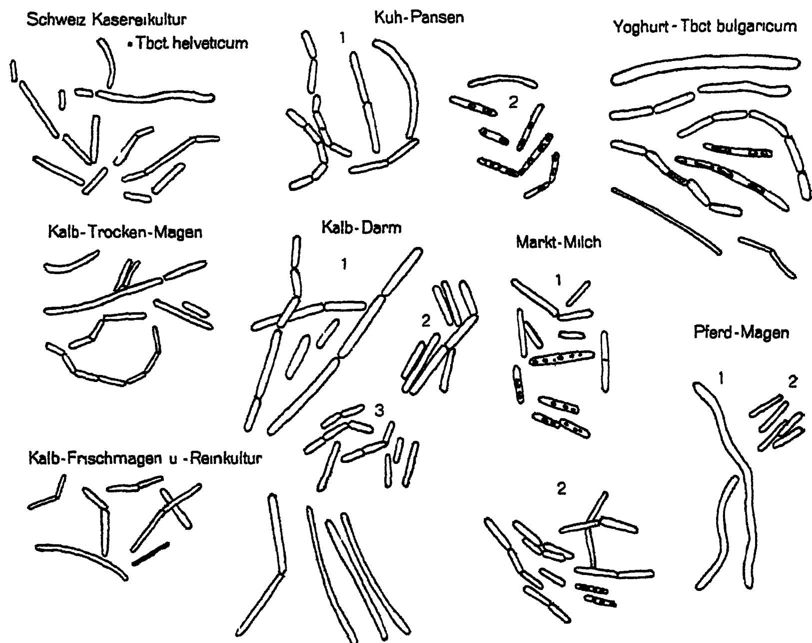


Abb. 4. „Tier-Milchsäurebakterien“ (1000×). Thermobacterium lactis aus dem Kuhpansen (2) und aus der Marktmilch (1 u. 2).

es sich hier um eine Anreicherungskultur (Labansatz), so sind selbstverständlich meist auch Thermob. lactis, Betabacterium longum, breve u. a. neben dem Th. helveticum vorhanden. Schwarz (unter Leitung des Ref. angefertigte Dissertation Kiel 1929) fand in zwei 4 tägigen Kälbermägen — wie üblich zur Naturlabherstellung behandelt, getrocknet usw. — bei der Anreicherung in pasteurisierter Molke 8 stäbchenförmige Milchsäurebakterienarten. die wohl sicher aus dem Kalb stammten: Thermob. lactis, helveticum, cereale, „Zwischenform“ bulgaricum: Jugurt, Maerckeri (?), Streptobact. plantarum, casei-plantarum, Betabact. longum und breve. In den Kälbermagen müssen diese Arten, solange nur Milchnahrung vorliegt, z. T. sehr günstige Entwicklungsbedingungen finden. Da die Vagina der Kuh keine Milchsäurebakterien aufweist, gelangen letztere gewöhnlich durch das Belecken der Kuh in das Kalb. Hierdurch werden sowohl aus dem Pansen (beim Wiederkauen vom Pansen ins Maul gelangend) als auch

aus dem Futter und der Streu Milchsäurebakterien übertragen. Während das neugeborene Kalb im Heu oder im Gras liegt, leckt die Kuh alle Teile, auch das Maul und die herausgestreckte Zunge des Kalbes ab, wobei die Zunge der Kuh, wie man feststellen kann, regelmäßig auch die Unterlage (Heu, Gras) berührt. Sobald das Kalb die Zitzen der Kuh, das Fell u. dgl. ableckt oder Milch aus dem Eimer säuft und Gras und Heu frißt, kommen beständig alle möglichen Milchsäurebakterien in den Magendarmkanal. Von anderen Forschern wurde festgestellt, daß das Th. helveticum bei dem Übergang zur Heunahrung aus dem Kälbermagen verschwindet (s. u.). Bei der Untersuchung von 24 Kuhpansen fand Kreipe (unter Leitung des Ref. angefertigte Dissertation Kiel 1926) nur selten Thermob. cereale und lactis (sehr viel Streptococcus bovis, weniger faecium, thermophilus, Betac. bovis), dagegen nicht Th. helveticum, Streptob. plantarum und casei (auch nicht Streptococcus lactis). Die Verhältnisse im gesunden Kuhpansen müssen demnach für die stäbchenförmigen Milchsäurebakterien durchaus ungünstig sein. Anders ist es im Dünndarm der Kuh, da hier Albr. Voß (unter Leitung des Ref. angefertigte Dissertation Kiel 1928) stets (bei 5 Kühen) Thermob. lactis (viel Streptococcus faecium, bovis, thermophilus, auch cremoris (nicht in 2 Kühen) — im Rectum nur faecium und bovis — vorfand. Der Kuhkot zeigte nach Verfütterung von frischen Rübenblättern (1 g der Blätter enthielt 70 000 Streptobakterien und sehr viele Betabakterien sowie Strepto-, Beta- und Tetrakokken) eine sehr große Zunahme an Streptobakterien, Beta- und Tetrakokken. Die Streptobakterien in der Kuh dürften im Gegensatz zu Thermob. lactis demnach mehr als sehr häufige Passanten anzusehen sein. [Sehr bemerkenswert erscheint, daß der gewöhnliche Milchsäurestreptococcus (Streptoc. lactis) weder in der Kuh noch im Menschen (s. u.) zur Vermehrung kommen kann. Dieser typische Milch- und Käsepilz kommt also nicht aus dem Kuhdarm.] Im Käse reichern sich besonders die Streptobakterien, etwas später auch regelmäßig Thermobakterien und oft auch Beta- und Mikrobakterien (neben Streptococcus bovis, faecium, liquefaciens, inulinaceus, Betacoccus brevis, arabinosaceus), im Emmentaler — wie gesagt — infolge der großen Einsaat besonders das Thermob. helveticum an. Diese gelangen also z. T. beim Rohmilchtrinken sowie je nach der Käseart und je nach dem Alter des Käses in verschiedenen Arten und teilweise in sehr großen Mengen beim Käsegenuß in den Darm des Menschen (s. u.). Da der Säugling in den allermeisten Fällen keine Rohmilch und natürlich niemals Käse erhält, kommen die Rohmilch- — falls nicht Buttermilch aus Rohmilch gegeben wird — und die Käse-Milchsäurebakterien auch nicht in seinen Magen-Darmtraktus.

Herkunft der Yoghurtbakterien. — Zugehörigkeit zur Gruppe des Thermob. lactis.

Wiederholte Analysen von Yoghurt aus Bulgarien und der Türkei zeigten, daß das volutinenthaltende Thermobakterium in den meisten Fällen (regelmäßig in bulgarischen Yoghurtproben) vorherrscht. Unter diesen sind auch stets Maltose und Rohrzucker säuernde Stämme, die also zu Thermob. lactis gerechnet werden müssen, von uns gefunden. Im Original-Yoghurt kommen demnach sowohl Th. bulgaricum als auch Th.

lactis vor, was selbstverständlich erscheint, da in den Städten der Balkanländer heutzutage nie mehr wie ursprünglich die Lämmermägen, sondern fortdauernde Yoghurt-Milchübertragungen die Einsaat-Milchsäurebakterien liefern. Übrigens sind Th. bulgaricum und Th. lactis keineswegs als Arten im botanischen Sinne aufzufassen; ersteres kann wohl nur als eine durch beständige Züchtung in Milch bei 45—50° „abgeschwächte“ (s. Zuckerreihe) Rasse des Th. lactis d. h. als eine „Zuckerreihe-Variation“ gelten. Die im Gange befindlichen Versuche werden hierüber entscheiden. Nach der Zuckerreihe ist auch das Th. helveticum vom Th. lactis kaum unterscheidbar, da derartige Unterschiede sich auch bei Stämmen des Th. lactis finden. Wir müssen helveticum als eine sich im Kälbermagen bildende Rasse, der das Volutinbildungsvermögen verloren gegangen ist, auffassen. Hiermit würde auch sein sonstiges Nichtvorkommen eine Erklärung finden. Z. Z. wird von uns versucht, Th. lactis in helveticum zu verwandeln. Th. bulgaricum unterscheidet sich in der Zuckerreihe fast nicht von Th. jugurt, so daß letzteres als volutinlose Rasse des Th. bulgaricum gelten kann. Bisher kennt man es nur aus dem Yoghurt.

Milchsäurebakterien der Vagina des Menschen.

Zur Entscheidung der „Acidophilusfrage“ müssen unbedingt auch die in der Vagina regelmäßig vorkommenden stäbchenförmigen Milchsäurebakterien berücksichtigt werden Bei der Geburt werden sie auf den Säugling übertragen, so daß in vielen Fällen das Plocamobacterium vaginae mit Moros „Acidophilus“ des Säuglingsdarmes identisch sein dürfte (s. u.). Gleichzeitig mit dem Colibacterium werden aber auch Darm-Milchsäurebakterien aus der Mutter während der Geburt oder des ersten Badens in das neugeborene Kind einwandern. Über die Vagina-Milchsäurebakterien gibt es eine äußerst umfangreiche Literatur. Wir entnehmen die folgenden Angaben einer soeben abgeschlossenen Dissertation von cand. med. et phil. Georg Henneberg (Universitäts-Frauenklinik in Kiel, Direktor Prof. Schroeder). Wegelius (1909) unterschied besonders nach der Zellform und nach der Alkalitoleranz verschiedene Arten, die M. af Heurlin (1910) in ihrem Verhalten in der Milch weiter charakterisierte: 1. kurz und dick — indifferens (4 Tage oder keine Milchgerinnung) — inversus (5—10 Tage) — subaerobius (keine Milchgerinnung); 2) kurz und dünn = tenuis (2—10 Tage oder keine Milchgerinnung); 3. lang = longus (keine Milchgerinnung); 4. dünne neben dicken Zellen = anaerophilus (7—10 Tage). Im „Lehmann und Neumann“ sind, wie schon oben gesagt, die langzellige Art „vaginalis longus“ als Pl. vaginae, die kurzzellige „vaginalis minor“ als Pl. acidophilum bezeichnet. G. Henneberg fand 2 morphologisch (Ketten bildend in 6 Frauen — oder einzelne Zellen in 4 Frauen — beide in 1 Frau), aber nicht physiologisch unterscheidbare Gruppen. Hauptmerkmale: Kein Volutin, durchschnittliche Zellgröße 1,25—27 : 0,5—1.1. bisweilen Fäden und rundliche hypertrophische Formen. Tarozzibouillon (ph 6.2) wird in 48 Std. trübe, später bildet sich ein flockiger Bodensatz. Kolonien auf Blutagar mit Ausläufern. In Tarozzibouillon mit 2% Glukose Säurebildung bis ph 3,3, Säuretoleranz 3,8; Alkalitoleranz bis 8,4. Niemals Gasbildung. Lackmusmilch wird rosa oder völlig entfärbt und meist dick gelegt. Die meisten Stämme — 8 Stämme aus 7 Frauen, c_1 und c_8 aus der gleichen

— säuern, wie auch auf der obigen Zuckerreihentabelle vermerkt wurde, keine Pentose und keinen Alkohol, dagegen sämtliche Zuckerarten, die höheren Kohlehydrate (Glykogen, Inulin, Dextrin, Stärke) und Salizin. Nur 2 Stämme (e_5, m_1) säuern Arabinose, 3 (c_1, d_3, e_5) keine Mannose, 1 (c1) keine, 1 (d_3) wenig Laktose, 6 (f_1, l_1, p_1, c_1, d_3, e_5) nur wenig Raffinose, 1 (c_1) kein Dextrin. Charakteristisch ist das in der Regel langsame Säuerungsvermögen in Milch (geprüft 18 Stämme aus 9 Frauen): Nur 1 Stamm ($c_8 = V_8$ auf unserer Tabelle) legt die Milch in 1 Tag dick, ein anderer in 2 Tagen, 2 Stämme in 3 Tagen, 3 Stämme in 5 Tagen. Es handelte sich in den bisherigen Angaben 3 mal um die langzellige, 4 mal um die kurze Form. Alle übrigen 11 Stämme brachten die Milch nicht in 6 Tagen zur Gerinnung. Milch mit etwas Hefeextrakt hatte bei V_8 am 3. Tag 0,8%, am 5. Tag 1,3 und am 7. Tag 1.5% Milchsäure (d_3 0,2% — 0,5% — 0,91%). Diazetylbildung fehlte. — Ein volutinbildender Stamm (s. u.) wurde beobachtet, aber nicht genauer untersucht. — Uns interessiert hier noch besonders, daß die Gynäkologen den in Rede stehenden Bakterien eine sehr wichtige Bedeutung beilegen, da sie durch ihre Säurebildung (aus abgebautem Glykogen bzw. direkt aus Glykogen) fremde Bakterienarten fernzuhalten vermögen. Das ausnahmslose Vorkommen in der Vagina — beim neugeborenen Mädchen schon am 4. Tag — beweist jedenfalls, daß die Bedingungen hier besonders günstig sein müssen. G. Henneberg nimmt mit anderen Forschern an, daß die Besiedlung der Vagina beim weiblichen Säugling von seinem Darm aus erfolgt: Nach der Geburt sind überall auf der Haut und an den Haaren des Neugeborenen die Vaginastäbchen zu finden; von hier aus gelangen sie beim Baden in den Mund und so auch in den Darm des Säuglings. Wenn auch das oben beschriebene Pl. vaginae die häufigste Art in der Vagina ist, so dürften bisweilen — wenigstens zeitweise — auch andere ursprüngliche Darmstäbchen zur Ansiedlung kommen.

Milchsäurebakterien des Darmes der Säuglinge.

Seitdem Moro den „acidophilus“ aus den Säuglingsfäzes gezüchtet hat, sind die stäbchenförmigen Milchsäurebakterien aus dem Säuglingsdarm von vielen Forschern mehr oder weniger genau untersucht. In manchen bakteriologischen Instituten (z. B. in Kiel) werden seit langem „Acidophiluskulturen“ zur Abgabe an Acidophilusmilch-Betriebe und Privatpersonen vorrätig gehalten. Unabhängig von den amerikanischen Bakteriologen hatte Ref. die Verwendung von Menschendarm-Milchsäurebakterien an Stelle der körperfremden Lämmer-Milchsäurebakterien im Yoghurt zur Bereitung eines „Reformyoghurts“ vorgeschlagen, nachdem eigene Versuche ergeben hatten, daß sich nur erstere im Darm anzusiedeln vermögen. Die Bezeichnung „acidophilus“ hatte Moro gewählt, weil diese Bakteriengruppe aus den Säuglingsfäzes durch die von Natur saure Bierwürze anzureichern war. Wir müssen annehmen, daß es sich besonders um das säuretolerante Pl. vaginae (s. o.) gehandelt hat. Wenn spätere Forscher aus dem Darm der Erwachsenen auf ähnliche Weise (Milchzuckerbouillon mit 1% Milchsäure oder 0,5—1 proz. Essigsäure) den „acidophilus“ reinzüchteten, so können natürlich ganz verschiedene säuretolerante stäbchenförmige Milchsäurebakterien — endemische oder Passanten aus der Nahrung Rohmilch, Yoghurt, Kefir, Käse, Sauergurken, Rohobst — vorgelegen haben. Die Sammelgruppe „Acidophilus“ umschließt also mindestens im letzteren Falle Pl. vaginae, Thermobacterium cereale und lactis,

Streptobacterium plantarum und casei. Betabacterium longum. Wenn man, wie im Handbuch von Lehmann und Neumann die Bezeichnung fur eine bestimmte Art (Pl. acidophilum) einschranken will, so muß die Abgrenzung gegen andere Arten moglichst scharf sein. Schon die Fundortangaben im Werk von Lehmann und Neumann (Vagina, Sauglingsdarm, Darm der Erwachsenen, Frauen- und Kuhmilch, Sauerteig) beweisen, daß hier wieder eine Sammelart vorliegt. Es handelt sich mindestens um Pl. vaginae und Thermobacterium lactis, die sicherlich nicht identisch sind. Eine besondere Art Pl. acidophilum aufzustellen, erscheint demnach ganz ubertlussig. Will man die Bezeichnung beibehalten, so konnte sie fur die im Saugling häufige Volutinrasse des Plocamob. vaginae verwendet werden (s. u.)

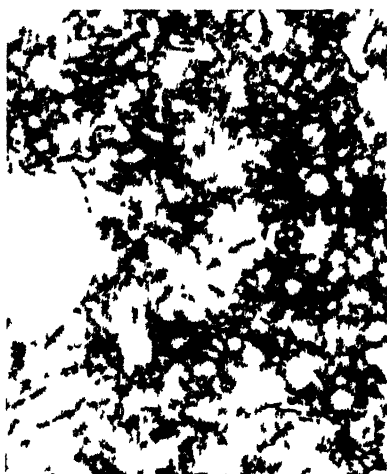


Abb. 5. Therm. lactis. Übergangsform.

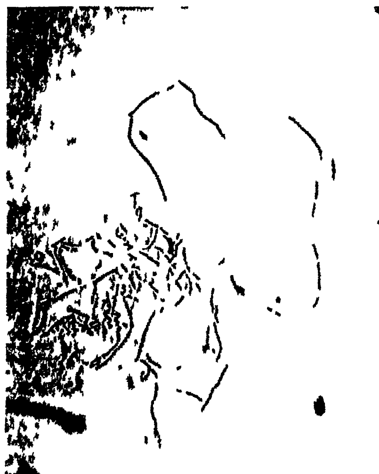


Abb. 6. Plocamobacterium vaginae.

Im Bakteriologischen Institut der Kieler Milchforschungsanstalt wurden die Säuglings- und Erwachsenen-Darmmilchsäurebakterien (s. u.) in den letzten Jahren genauer untersucht, um einen moglichst wirksamen „Reformyoghurt" (= Acidophilusmilch) herstellen zu konnen. Die Ergebnisse seien hier mitgeteilt.

Es wurden (1926—1934) etwa 20 gesunde Säuglinge untersucht; aus 11 meist nur mit Brustmilch ernährten 16 Milchsaurebakterienstämme (meist einer aus je 1 Säugling, nur S_6, S_7, S_8—S_9, S_{10}—S_{11}, S_{12}—S_{13}, S_{14} aus je einem Säugling) reingezüchtet. Da die beiden aus Amerika erhaltenen Stämme S_4 und S_5 ganz sicher (Volutingehalt!) ebenfalls aus Säuglingen stammten, wurden sie hier eingereiht. Der Bestand an stäbchenförmigen Milchsäurebakterien im Säugling ist außerordentlich wechselnd. Nicht selten finden sich in ganz jungen (z. B. 14- und 16 tägigen) Säuglingen noch gar keine. Auch das Bact. bifidum fehlt sehr oft. Ein einfacher Methylenblauausstrich läßt erkennen, daß manchmal (z. B. Säugling ernährt mit 2/3 Milch, 1/3 Mehlsuppe, Stämme S_6, S_7, S_8) nur volutinlose Stäbchen, manchmal (z. B. Muttermilchsäugling, Stämme S_9, S_{10}) vorherrschend volutin-

haltige und in anderen Fällen (z. B. Muttermilch und Buttermilch) volutinlose neben volutinhaltigen etwa in gleichem Mischungsverhältnis vorliegen. Vertreter von beiden Arten — S_1 bis S_5 mit Volutin — S_6 bis S_{18} ohne Volutin kamen zur Untersuchung. Sehr beachtenswert ist, daß die Volutinstäbchen S_1, S_4, S_5 in der Zuckerreihe außerordentlich den kein Volutin enthaltenden Pl. vaginae gleichen (S_5 völlig, S_4 sauert kein Salizin, S_1 außerdem auch keine Raffinose). Es handelt sich vielleicht nur um eine Volutin enthaltende Rasse dieser Art, die hochstwahrscheinlich auch in der Vagina noch gefunden (G. Henneberg beobachtete nur ein einziges Mal einen volutinenthaltenden Stamm) werden kann. Die Stämme S_2 und S_3 ähneln in der Zuckerreihe mehr dem Th. lactis (Säuerung der Alkohole. allerdings auch der Arabinose). (Abb. 5.) Wegen der verwandtschaftlichen Beziehung zum Thermob. lactis im Darm des Erwachsenen beanspruchen diese Stämme



Abb. 7. Plocamobacterium vaginae.



Abb. 8. Plocamobact. vaginae (Rasse).

großes Interesse (s. u.). Unter den volutinfreien sind. soweit sich aus dem Vorhandensein von Zellketten und aus der Zuckerreihe schließen laßt, die Stämme S_{11}, S_{12}, S_{13}, S_{14} zur Streptobakteriengruppe zu stellen. Die Stämme S_7, S_9, S_{15}, S_{17}, S_{18} sind besonders wegen des Verhaltens in der Zuckerreihe (keine Pentosen — keine Alkohole, dagegen höhere Kohlehydrate säuernd) Pl. vaginae (Abb. 6 u. 7). Sehr hervorzuheben ist, daß durch S_2, S_5, S_{15} Glykogen gesäuert wird, sie sind vielleicht auch deshalb — die beiden letzteren schon wegen ihres sonstigen Verhaltens in der Zuckerreihe — echte Vaginastämme. Die übrigen 4 volutinlosen Säuglingsstämme S_6, S_8, S_{10}, S_{16} stimmen nach der Zuckerreihe nicht mit der zuletzt genannten Gruppe überein. Bemerkenswert hierbei ist, daß S_6 und S_8 mit dem Vaginaestamm S_7 in demselben Säugling, ebenso S_{10} mit dem Vaginaestamm S_9 zusammen in einem anderen gefunden wurden. Sie müssen wohl als „Zucker"-Varianten des Vaginae, mit dem sie sonst übereinstimmen (s. Abb. 8 = S_6), angesehen werden. Der Stamm S_{16} säuert keine Mannose, keinen Rohrzucker, nur wenig Malz- und Milchzucker, kein höheres Kohlehydrat, keinen Alkohol — ist also sicher unnormal, d. h. „abgeschwächt". In Milch bei 37° trat nur bei den 5 Volutinbildnern,

d. h. Thermob. lactis- bzw. Volutin-Vaginae-Gruppe in 24 Std. Gerinnung (mit Hefeextraktzusatz, 1 Tropfen auf 10 ccm, Säure 0,96 — 1.1% — 2 Tage 1,4% — 5 Tage 1,6—1.8%) ein, während bei den volutinlosen Vaginastämmen S_7, S_9 und bei den atypischen Stämmen S_6, S_8, S_{10} erst ein Zusatz von Hefeextrakt vorgenommen werden mußte, um den gleichen Erfolg in 48 Std. zu haben (Säure 0,48—0,8—0,9%). Der Stamm S_{11} wuchs in Milch überhaupt nicht mehr an. Bei den meisten Stämmen war wenig CO_2-Bildung zu beobachten. Lackmusmilch wird unter Rötung dickgelegt, nach einigen Tagen von unten her weiß. Bemerkenswert ist, daß in Lackmusmolke die Farbe bisweilen gänzlich (3 Tage bei S_3) oder fast ganz (5 Tage S_5) verschwindet. Die Volutinstämme S_1, S_3, S_4 haben ein sehr starkes, S_5 ein etwas geringeres und S_2 ein sehr geringes Kaseinauflösungsvermögen (Milchagar-Petrischale).

Das mehr oder weniger völlige Verschwinden der Colibakterien bei großer Anreicherung von bestimmten Milchsäurebakterienarten im Menschendarm (s. u.) gab Anlaß zu folgenden Versuchen: Es wurden 3 Säuglingsdarmstämme (2 volutinbildende [S_2, S_5] und 1 Stamm ohne Volutin [S_{14}]) in Milch, in Milchzuckerbouillon und in Maische in etwa gleicher Menge mit 3 frisch aus dem Menschendarm reingezüchteten Colistämmen (W. Sch. K.) in Einzelversuchen bei 37° zusammengeimpft. Die Mischungen wurden nach 48 Std. in neue Nährböden übertragen, um festzustellen, ob die Colibakterien ausgeschaltet waren. Beurteilung nach dem Auftreten von Gas und nach dem mikroskopischen Bild. In der durch Übertragung aus der ersten Milchkultur beimpften Milch wuchs nur bei S_2 keiner der 3 Colistämme an. Das gleiche war bei S_2 in Milchzuckerbouillon und in Maische bei 2 Colistämmen der Fall. Offenbar wirkte hier die besonders schnelle und starke Säuerungskraft dieses Milchsäurepilzes (Dicklegung der Milch in 24 Std.) entscheidend.

Milchsäurebakterien des Darmes der Erwachsenen.

Im Säugling fanden sich, wie wir im vorigen Abschnitt sahen, das Pl. vaginae der mütterlichen Vagina, das Thermob. lactis und die Streptobakteriumgruppe. Die beiden letzteren stammen, wenn nicht rohe Kuhmilch gereicht wurde, als häufige Darmstämme der Erwachsenen (s. u.) ursprünglich wohl aus dem mütterlichen Darm. In dem älteren Kind und in den Erwachsenen kommen allerlei Milchsäurebakterien aus der Nahrung hinzu, z. B. aus Rohmilch, Butter, Käse, milchsauren Gurken (Salzgurken) und Rohkost (Mohrrüben, Erdbeeren und dergl.). Wenn Milch in größerer Menge und gleichzeitig Käse genossen wurden, so werden sich wie man von vornherein annehmen muß und von uns bestätigt wurde (s. u.), größere Mengen von Milch-Milchsäurebakterien im Darm anreichern. Im Magen kommen sie unter normalen Salzsäure-Verhältnissen nicht auf. Sobald aber der Salzsäureschutz fehlt (keine oder zu wenig Säure), also bei Stauungen, Magenerweiterung, Carcinom, findet schon hier eine starke Vermehrung der Milchsäurebakterien statt, die „Sodbrennen“ verursachen können. Henneberg fand z. B. neben Thermob. cereale noch 3 andere stäbchenförmige Arten (wahrscheinlich Betab. longum, Streptobact. casei) in einem Carcinom-Magen. Im mittleren Dünndarm scheint nach den Beobachtungen von Henneberg, van der Reiß, Rosell u. a. ihre normale Wohnstätte zu sein. Von hier aus gelangen sie in lebendem Zustand auch durch die übrigen Darmteile,

in denen wohl nur unter bestimmten Verhältnissen (s. u.) eine Ansiedlung möglich ist, in die Fäces. Günstige Wachstumsverhältnisse werden vorliegen, wenn ein reichlicher Genuß von Milch, Milchzucker, zucker- und stärkehaltigen Früchten, Gemüsen oder sonstigen zucker- und stärkehaltigen Nahrungsmitteln stattfindet. Eine ganze Reihe von Milchsäurebakterienarten vermag auch direkt Stärke, die man oft noch in den Fäces nachweisen kann, anzugreifen. Jedenfalls sind den stäbchenförmigen Milchsäurebakterienarten eine eiweißhaltige kohlehydratreiche Nahrung sowie die gleichmäßig hohe Temperatur, der Sauerstoffmangel und die schwach saure bis schwach alkalische Reaktion im Darm sehr günstig; ebenso scheint für sie die Gegenwart bakterizider Darmschleimhaut-Absonderungen und des Bact. coli unschädlich zu sein (s. u.). Die Fäces enthalten bisweilen mehr Milchsäurebakterien als Colibakterien, auch kann letztere Art ganz fehlen (s. u.). — Es ist keine Frage, daß ursprünglich aus dem Darm bestimmte stäbchenförmige Milchsäurebakterien über den Damm — hier wurden verschiedene Darmstämme von G. Henneberg (s. o.) regelmäßig nachgewiesen — in die Vagina einwanderten und sich hier dem Standort anpaßten und so zum Pl. vaginae wurden. Wie lange und unter welchen Bedingungen sich dieses im älteren Säugling, im heranwachsenden Kind und im Erwachsenen als Darmpilz zu halten vermag, könnte nur durch viele Untersuchungen entschieden werden. Im Darm zweier Erwachsener (s. Stamm E_3 und E_{13} E_{14}) konnten wir das Pl. vaginae mit Sicherheit nachweisen (s. u.). Vielleicht wird es meistens durch andere Arten (bisweilen möglicherweise auch erst bei der Anreicherung im Glas) unterdrückt, wenn man nicht eine allmähliche Umwandlung in eine andere „Art" annehmen will. Nicht unmöglich ist, daß manche volutinhaltigen Säuglings-Stämme (wohl sicher bisweilen auch vaginaler Herkunft) bei den veränderten Nahrungsverhältnissen im Darm der Erwachsenen zu den hier öfters gefundenen volutinhaltigen Thermob. lactis wurden. Die Volutinstämme S_2 und S_3 des Säuglingsdarms könnten nach der Säuerung der Alkohole (s. Zuckerreihe) Übergangsformen zu dieser Art sein. Maurer, der unter Anleitung des Ref. (Dissertation Kiel 1929) die Darmmilchsäurebakterien der Erwachsenen (5 bzw. 8 Personen vor und nach dem Genuß von Milch, Milchzucker, Acidophilusmilch s. u.) untersuchte, fand bei seiner Untersuchungsweise — nachdem 8 Tage weder Milch noch Milcherzeugnisse (Käse!) genossen waren — im Durchschnitt bei 4 Personen 23—55% Milchsäurebakterien unter den noch lebenden Bakterien. Es handelte sich bei dieser Zahl um 9—39% stäbchenförmige Milchsäurebakterien, von denen 2—13% volutinhaltige als „Acidophilus" bezeichnete Stäbchen, 1—7% Streptobakterium casei und plantarum, 2—6% Betabakterium longum und breve und 3—13% Mikrobakterium lacticum waren (daneben 61—91% Streptokokken = 26—58% faecium, 18—36% glycerinaceus, 2—19% thermophilus). Diese 9 Arten hält Maurer für endemisch, während die folgenden 9 Arten, da sie nur in einzelnen Personen (in Klammern, wie oft bei direktem Plattenguß bzw. nach Anreicherung) vorkommen, für Passanten erklärt wurden: Volutinlose Art [2 x, Anreicherung 1 x] (weil volutinlos = irrtümlich als Thermob. lactis bezeichnet!) — Thermob. cereale [Anreicherung 4 x] — Microbact. mesentericum [Anreicherung 2 x] — Streptococcus lactis [Anreicherung 3 x] — cremoris [Anreicherung 3 x] — Betacoccus arabinosaceus [Anreicherung 2 x] — bovis [Anreicherung 1 x] — pyogenes [Anreicherung

5 x] — liquefaciens [Anreicherung 4 x]. Die von Maurer für seinen volutinbildenden „Acidophilus" angegebene Zuckerreihe (keine Pentosen, keine Alkohole, dagegen Dextrin, Stärke, Salizin säuernd) beweist, daß es sich um die gleiche Art wie bei unserem Säuglings-Volutinbildner (s. o.) handelte. Maurers volutinlose Thermob. lactis-Stämme könnten, da sie vom vorigen in der Zuckerreihe nur unwesentlich abweichen (wenig Dextrin, keine Stärke), etwas veränderte Pl. vaginae („Zuckervarianten") sein.

Ref. ist der Ansicht, daß das Nichtvorkommen von manchen Arten in den einzelnen Personen nichts über ihren Passantencharakter aussagt, da sie bei den einzelnen Personen als endemisch auftreten können. Vergleichen wir die „Säuglings"- mit den „Erwachsenen"-Milchsäurebakterienarten, so erscheint die Zunahme der Arten als charakteristisch. Obwohl 8 Tage Milch und Milcherzeugnisse nicht genossen wurden, sind von Maurer in den Erwachsenen die Volutinstäbchenart und die beiden Streptobakterien stets gefunden worden, das volutinlose sog. Thermob. lactis nur in 3 Personen. Diese Arten könnten nach unseren obigen Angaben vom Säuglingsalter her (wie die Colibakterien) dauernd vorhanden sein. Das Vorkommen aller übrigen stäbchenförmigen Arten dürfte in den meisten Fällen auf spätere Einwanderung zurückzuführen sein (s. u.). Es braucht sich hierbei wie beim Thermob. cereale durchaus nicht nur um Milch-Milchsäurebakterien handeln. Das Thermob. cereale kann z. B. mit Rohobst und Rohgemüse (Erde!) in den Körper gelangen. Thermob. helveticum wurde von Maurer nicht gefunden, obwohl es doch mindestens zeitweise im Schweizerkäse mitgenossen wird. Auf Bact. bifidum wurde von Maurer nicht geachtet.

Eigene Untersuchungen der stäbchenförmigen Milchsäurebakterien von 7 Erwachsenen (Abb. 9).

Es handelt sich um 14 Stämme, und zwar sind E_1 bis E_4 aus Person I — E_5 bis E_7 aus II — E_8 und E_9 aus XVI — E_{10} aus IV — E_{11} aus V — E_{12} aus XVII — E_{13} und E_{14} aus VII. Sämtliche waren ohne Volutin. Wie oben schon gesagt, dürften die Stämme E_3, E_{13} und E_{14} zu Pl. vaginae (ohne Volutin) gehören, da die Zuckerreihen große Übereinstimmung zeigen. Die Stämme E_6 und E_7 säuern weder Galaktose noch Mannose und müssen daher als atypische Stämme (siehe oben) angesehen werden. Die Stämme E_8 bis E_{12} zeigten besonders ausgesprochene Kettenbildungen neben deutlicher Arabinose- und etwas schwächerer Rhamnosesäuerung, dürften also — auch nach dem Verhalten in Milch und bei verschiedenen Temperaturen — sicher Streptobakterien sein. Da diese Kasein deutlich (besonders E_{12}) auf der Milchagar- Petrischale auflösten, handelte es sich um Streptob. casei. Ein absolutes Übereinstimmen mit der von O. Jensen angegebenen Zuckerreihe kann — nochmals gesagt — nach unseren heutigen Erfahrungen niemals gefordert werden. Die Glykogen-Säuerung (siehe oben) für E_2 E_3 E_3a ist besonders beachtenswert; E_3 ist auch nach der Zuckerreihe und dem morphologischen Verhalten (s. Bild 1 d) ein Pl. vaginae. Die übrigen 4 Stämme (E_1 E_2 E_4 E_5) sind nicht in die bekannten Arten (besser Gruppen) einzureihen. E_1 und E_2 (E_2 Glykogen säuernd) sind aus der gleichen Fäzesprobe, unterscheiden sich von allen durch das fehlende Maltosesäuerungsvermögen, sind auch sonst sehr ähnlich. Von besonderem Interesse ist, daß am gleichen Tage aus der gleichen Petrischale reingezüchtete

Stämme wohl meist morphologisch, aber nicht in der Zuckerreihe übereinstimmen (vgl. E_1 und E_2, E_3 und E_4, sämtlich aus Person I, E_6 und E_7 aus II, E_8 und E_9 aus XVI, E_{13} und E_{11} aus VII). Es dürfte dies für die unter natürlichen Verhältnissen vorkommenden „Zuckerreihe-Variationen" (physiologische Rassen), die möglicherweise durch die Verschiedenheit der Ansiedlungsstellen in den einzelnen Darmabschnitten bedingt sind, verwertbar sein. Jedenfalls erscheint es zweckmäßig, nach dem Vorschlag des Ref. immer „Gruppen" und nicht scharf zu kennzeichnende Arten zu unterscheiden. Die Personen I und II wurden sehr oft zu verschiedenen Zeiten untersucht (siehe

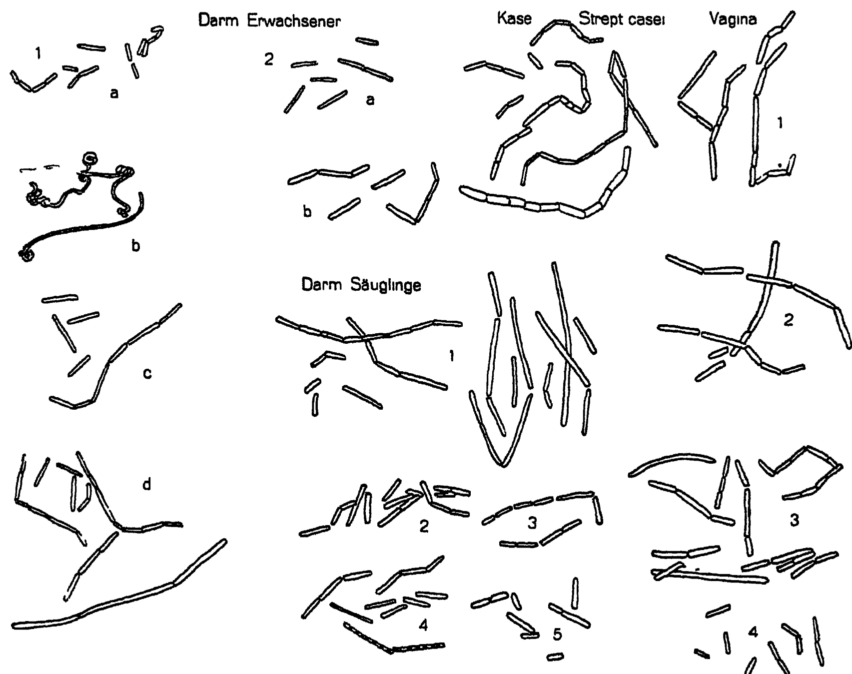


Abb. 9. „Menschen-Milchsäurebakterien" (1000×).
Aus Erwachsenen: 1a = Stamm E_1, b = E_2, c = Betabacterium longum, d = E_3 (Plocamob. vaginae), 2a = Betab. longum, b = E 6a. Aus Säuglingen: 1 = S_6. Plocamob. vaginae (Rasse). 2 = S_{12} Streptobacterium. 3 = S_{17} Plocamob. vaginae. 4 = S_2 Thermob. lactis (Übergangsform). 5 = S_1 Volutinrasse des Plocamob. vaginae. Aus der Vagina (3 Frauen): Plocamob. vaginae, 4 Rasse ohne Ketten. (Aus Käse: Streptobact. casei.)

unten); hierbei ließ sich schon mit Hilfe der Federstrichkulturen im großen und ganzen immer das gleiche Bild feststellen. Person I hatte fast stets viele, aus dünnen Zellen bestehende verschlungene Ketten, Person II dagegen nur zusammenhanglose Zellen. Ähnliches wurde auch bei den wiederholten Untersuchungen anderer Personen beobachtet, so daß man oftmals schon an dem Milchsäurebakterienbestand in den Präparaten die Herkunft (d. h. die betreffende Person) erkennen konnte. Wir können hieraus wohl folgern, daß unter gleichbleibenden Verhältnissen (Nahrungsart, Gesundheitszustand) jeder Mensch seinen eigenen der Menge und der Art nach charakteristischen Milchsäurebakterienbestand besitzt. — Die von Maurer an-

geführten Volutinbildner (s. oben) haben wir in den von uns untersuchten Personen nicht aufgefunden. (Maurer untersuchte nur männliche, wir mit 3 Ausnahmen nur weibliche Personen.) Vielleicht ist es nur ein Zufall. oder es ist auf irgendeine Abweichung im Anreicherungs- bzw. Plattenguß-verfahren oder auf einen voraufgegangenen Genuß von „Acidophilus-milch" (in unserem Institut!) zurückzuführen. Bei weiteren Untersuchungen muß besonders auf das Vorkommen der Volutinbildner im Darm der Erwachsenen achtgegeben werden.

Ansiedlungsversuche von Milchsäurebakterien durch den Genuß von Milch. Milchzucker, Käse und Reinkulturen.

Obwohl schon eine größere Anzahl gleicher oder ähnlicher Versuche an Menschen von verschiedenen Forschern ausgeführt wurden, sind diese Untersuchungen von uns weiter fortgesetzt worden, da noch sehr viele Fragen zu beantworten sind. Von den neueren Versuchen über dieses äußerst wichtige Thema seien nur die Ergebnisse von Maurer (Dissertation unter Leitung des Ref.. Kiel 1929) und von Orla Jensen und O. Winther (1933, Maelkeritidende, Nr. 19, S. 469—474) kurz genannt. Maurer stellte, wie oben schon gesagt wurde, seine Untersuchungen an 5 Personen an, die während 8 Tagen weder Milch noch Milcherzeugnisse genossen hatten. Zunächst trank jede Person (4 Personen) 8 Tage je ½ l pasteurisierte Vollmilch — in der zweiten Versuchsreihe (3 Personen) täglicher Genuß von 50 g Milchzucker — in der dritten Reihe (3 Personen) täglich ½ l Acidophilusmilch mit Milchzucker (z. T. mit Kreide).

	Vorher	Nach dem Genuß von Milch	Milchzucker	Acidophilusmilch z. T. gleichzeitig mit Kreide bzw. mit Milchzucker
	%	%	%	%
Unter den lebenden Bakterien waren Milchsaurebakterien	23—55	64—83	90	86—95 (mit Kreide)
davon stäbchenformig	9—39	28—48	49—66	
davon „Acidophilus" (s. oben)	2—13	8—10	28—37	55—74 (mit „) 92—99 (ohne „) 92—99 (mit Milchz.)
Streptobakterien	1—7	4—20	12—14	
Betabakterien	2—6	3—8	3—5	
Mikrobakterien	3—13	6—11	2—5	

Orla-Jensen und Winther berichten über Untersuchungen an 2 Personen (I, II). Versuchsperson I, die täglich ¼ l Dickmilch genoß, enthielt in den Fäzes neben zahlreichen Bact. bifidum 40% coli — nach dem Genuß von 100 g Milchzucker nur 0,4% coli — nach dem Genuß von Acidophilusmilch (¼—½ l) mit 75 g Milchzucker viele stäbchenförmige Milchsäurebakterien neben bifidum und 6,3% coli. — Versuchsperson II, die anfangs viele stäbchenförmige Milchsäurebakterien und 37—50% coli aufwies — nach dem Genuß von Acidophilusmilch mit Milchzucker 1,7—7% coli. Acidophilusmilch reicherte die

Acidophilusbakterien bis auf 19% an. Gleichzeitig vermehrten sich auch andere stäbchenförmige Milchsäurebakterienarten und Streptokokken. — Durch frühere Untersuchungen von Orla-Jensen und anderen wissen wir, daß der Strept. lactis sich im Darm des Menschen nicht anzusiedeln vermag. Diese Art wird hier von Strept. faecium und glycerinaceus vertreten. Daß die Yoghurt-Milchsäurebakterien sich im Gegensatz zu dem „Acidophilus" nicht im Menschendarm halten können, hat außer mehreren anderen Forschern auch Ref. früher nachgewiesen.

Eigene Untersuchungen.

Vor dem Beginn unserer Versuche wurde in den Fäzes von einer größeren Anzahl Erwachsener die Milchsäurebakterienflora festgestellt, um geeignete Versuchspersonen ausfindig zu machen und gleichzeitig eine etwa vorhandene Abhängigkeit vom bisher stattgefundenen Milch- bzw. Käsegenuß oder -Nichtgenuß festzustellen. Für unsere Zwecke genügte (s. oben) ein Nachweis mit der Chinablaumilchzuckerbouillonagar-Petrischale, öfters auch nur die Würze- neben der Milchzuckerbouillon-Federstrichkultur und gleichzeitig die „Deckglas-Petrischalenkultur" und Würzeanreicherung. In einigen Fällen (Verfütterung bestimmter Arten) konnten nur Neuisolierungen über die Arten entscheiden. Es werden mit den genannten Methoden selbstverständlich nur die unter diesen Bedingungen gut wachsenden Milchsäurebakterienarten — das sind aber die uns hier zunächst nur allein interessierenden Arten — festgestellt. Ebenso werden sich so nur die Arten, die in wesentlicher Menge und in lebenskräftigem Zustand im Darm und daher auch in den Fäzes vorhanden sind, nachweisen lassen. Sehr geringe Mengen oder abgeschwächte Zellen irgendeiner Art könnten — wie sich auch probeweise in einigen Fällen ergab — nur mit dem Anreicherungsverfahren festgestellt werden. Da solche nach jedem Genuß von Käse (s. unten), Rohobst u. dgl. vorhandene Passanten uns hier nicht interessieren, wandten wir fast stets nur die aufgeführten direkten Nachweismethoden (d. h. keine indirekten, „Anreicherungskulturen") an. Nur in dieser Einschränkung haben also unsere folgenden Angaben (z. B. „keine" stäbchenförmigen Milchsäurebakterien) ihre Berechtigung.

Die Personen I bis IV gaben einen täglichen reichlichen Käsegenuß (IV Speisequarg) an. I sehr viel stäbchenförmige Milchsäurebakterien (anscheinend 3 Arten, von denen E_1 bis E_4 — siehe „Zuckerreihe" — genauer untersucht wurden) neben wenig Streptokokken. II mäßig viel stäbchenförmige Milchsäurebakterien (E_5 bis E_7) neben sehr viel Streptokokken. III zahlreiche stäbchenförmige Milchsäurebakterien. IV viele stäbchenförmige Milchsäurebakterien in 2 Arten (E_{10}) neben sehr vielen Streptokokken. Die Personen V bis XV genossen nur wenig Käse und Milch (z. T. keine Milch). V viele Langstäbchen (E_{11}) und Streptokokken. VI mäßig viel Streptobakterien neben Bact. bifidum und großzelligen Streptokokken. VII sehr wenig stäbchenförmige Milchsäurebakterien (E_{13}, E_{14}) und Streptokokken. VIII wenig Bact. bifidum neben sehr vielen kleinzelligen Streptokokken. IX wenig stäbchenförmige Milchsäurebakterien (2 Arten), wenig Streptokokken. X keine stäbchenförmigen Milchsäurebakterien. XI wenig Streptobakterien, viel Bact. bifidum, sehr wenig Streptokokken. XII (keine Milch, wenig Käse) keine stäbchenförmigen Milchsäurebakterien, kein Bact. bifidum, sehr wenig Streptokokken —

im Anreicherungsversuch nur Mikrobakterien. XIII mäßig viel Bact. bifidum. XIV viele, lange Milchsäurebakterien.

Es ist sicher kein Zufall, daß bei reichlichem Käsegenuß in den meisten Fällen ein besonders großer Bestand an stäbchenförmigen Milchsäurebakterien festzustellen war. Bei geringem Käsegenuß fehlten diese Arten in 2 Fällen (X, XII; XII wurde sehr oft mit gleichem Ergebnis geprüft). Da die fast mit jedem Käsegenuß eingeführten Milchsäurebakterien in lebendem Zustand den Magen und Darm durchwandern können, sagt ihr Vorkommen in den Fäzes noch nichts über ihre Vermehrungsfähigkeit (= Ansiedlung) im Darm. Erst die Feststellung von sehr zahlreichen Käsebakterien und besonders einer solchen nach einem mehrtägigen (mindestens 3tägigem) Vermeiden von Käse (natürlich auch jeder anderen Bakterienquelle) beweist eine Ansiedlung (s. u.).

A. Größerer Milchgenuß.

Von I und II wurde während 8 Tagen täglich je 1 l pasteurisierte Vollmilch getrunken. Untersuchung am 2., 4., 5. und 8. Milchtag. I neben den bereits vorhandenen Arten findet sich ein dickzelliges Streptobakterium ein, Zunahme von Bact. bifidum (5 Tage), Abnahme der Streptokokken, keine Abnahme von Coli. II (4. Tag) eine sehr kleinzellige Streptokokkenart verdrängt die anfangs vorhandene größere Art, erstere herrscht am 8. Tag fast allein. Erst am 8 Tag treten stäbchenförmige Milchsäurebakterien in größerer Menge auf. — XI trank an 6 Tagen je 1 l kurz auf 90° erhitzte Vollmilch. Untersuchung am 2., 3., 4., 6. Tag: Die Anfangsflora — wenig Streptobakterium und Streptokokken, mäßig viel Bact. bifidum, viel Bact. coli — zeigt gar keine Veränderung.

B. Milch und Milchzucker.

I und II nehmen an 8 Tagen je ½ l pasteurisierte Vollmilch und außerdem 50 g Milchzucker zu sich. Am 8. Tag bei beiden äußerst starke Zunahme der Milchsäurebakterien. I 2 Arten stäbchenförmige Milchsäurebakterien, sehr kleine neben größeren Streptokokken, Bact. bifidum. II die kleine Streptokokkenart ist zur Vorherrschaft gekommen; die Menge der stäbchenförmigen Arten und des größeren Streptococcus ist verringert.

C. Schweizerkäse (aus Norddeutschland).

Von I und II wurde an drei aufeinanderfolgenden Tagen je ¼ Pfd. Käse und gleichzeitig ½ l pasteurisierte Vollmilch genossen. Wie die Analyse ergab, waren in diesem Käse Thermob. helveticum, Betabact. longum und ein äußerst kleinzelliger Streptococcus in größerer Menge. Bei I und II konnte in den Fäzes vom 2. und 3. „Käsetag" Th. helveticum in mäßiger Menge nachgewiesen werden, aber nicht mehr bei der erst wieder am 12. Tage nach Versuchsbeendigung vorgenommenen Prüfung. Betabact. longum konnte noch am 14. Tag aus den Fäzes wiedergezüchtet werden. Besonders auffallend verhielt sich ein sehr kleiner Streptococcus (Abb. 10). Bei I wurde er erst am 14. Tag (nicht 12. und 13. Tag) und dann regelmäßig in großen (15. 17, 18, 19, 20 Tagen) bzw. in ungeheuren Mengen (31. 32 Tagen) nachgewiesen, dann nur noch spurenweise (35. Tag) und schließlich am 38. Tag gar nicht mehr. Bei II trat diese sehr leicht nachweisbare Streptokokkenart zuerst am 13. Tag auf — sehr viel am 31. bis 33. Tag und hielt sich viel länger (über den 52. Tag hinaus) in großen Mengen.

D. Tilsiterkäse.

XI hatte an 6 aufeinanderfolgenden Tagen je 1 l bei 90° pasteurisierte Vollmilch getrunken, ohne daß eine Floraänderung sich bemerkbar machte (s. o.). Am 7. Tag wurde nur einmal 125 g Tilsiterkäse und weiter wie vorher täglich je 1 l Milch genossen. Bereits nach 1 Tag (nach dem „Käsetag") fanden sich in Mengen Streptobakterien und Streptokokken. Letztere nahmen an Menge (2. und 4. Tag) zu, erreichten nach 5 Tagen ihre Höchstmenge, so daß Coli kaum noch nachzuweisen war. Nach 6 Tagen machte sich eine Abnahme bemerkbar, nach 7 und 8 Tagen waren sie kaum noch vorhanden. Coli hatte sich entsprechend mehr und mehr wieder eingefunden. Am 14. Tag nach dem Käsegenuß waren trotz des täglichen Milchgenusses kein einziger Streptococcus, nur noch Streptobacterium und die Anfangsflora aufzufinden.

E. Genuß von Reinkulturen.

a) Thermobacterium lactis. XIV nahm während 8 Tagen täglich 200 ccm mit dem Stamm K_1 gesäuerte (vor der Impfung pasteurisierte) Vollmilch zu sich, außerdem wurde reichlich Milch getrunken. Schon bei der Untersuchung nach einem Tag und weiter fanden sich massenhaft die „verzehrten" Thermobakterien. Nach 5 und 6 Tagen stellten sich daneben auch Streptokokken in auffallender Menge ein. Noch 5 Tage nach Versuchsbeendigung konnten Thermobakterien und Streptokokken aufgefunden werden.



Abb. 10. Nach Genuß von Schweizerkäse. Sehr kleine Streptokokken.

b) Streptobacterium casei. IX genoß während 8 Tagen täglich 200 ccm mit dem Stamm Str. I gesäuerte (vor der Impfung pasteurisierte) Vollmilch. Am 3. Tag war dieses Käsebakterium neben zahlreichen Streptokokken, die anfangs fehlten, in sehr großer Menge in den Fäzes nachweisbar. Nach Versuchsbeendigung war es nur noch 2 Tage vorhanden, die Streptokokken fanden sich nach 3 Tagen noch reichlich, nach 7 Tagen nur noch in geringer Menge.

c) Volutinbildner S_2. XV trank zunächst nur während 3 Tagen täglich 200 ccm mit dem Stamm S_2 gesäuerte (vor der Impfung pasteurisierte) Vollmilch. Nach 2 und 3 Tagen war diese Art außerordentlich zahlreich in den Fäzes nachweisbar. Die Reinkultur wurde vor dem 2. Versuch erst 11 Tage in maltosehaltiger Milch (s. S. 111) vorgezüchtet. Hierauf wurden 200 ccm Milchkultur während 9 Tagen getrunken. Schon nach einem Tag und weiter ließen sich wieder die verzehrten Bakterien in außerordentlich großer Menge, nach 3 und besonders nach 6 und 7 Tagen daneben auch sehr viele Streptokokken nachweisen. Nach Versuchsbeendigung waren noch nach 4 Tagen beide Arten in sehr großer Menge aufzufinden.

d) Volutinbildner S_2 und S_3 in Mischung in einem fabrikmäßig hergestellten Trockenpräparat. X nahm während 7 Tagen täglich einige Teelöffel voll des in pasteurisierter Milch aufgeschwemmten Präparates zu sich. Bei den wiederholt vorgenommenen Untersuchungen zeigten schon die direkten Ausstriche das Vorherrschen der verzehrten Volutinstäbchen. Federstrich- und Reinkulturen bewiesen die Identität: Colibakterien waren nicht nachweisbar.

e) E_5 in Mischung mit V_8. I und VI genossen an 2 aufeinanderfolgenden Tagen je ½ l pasteurisierte Vollmilch, die mit Abschwemmungen von je 3 Schrägagarkulturen (150-ccm-Flaschen) der beiden Milchsäurebakterienarten vermischt waren. Bei I nach einem Tag nach Versuchsbeendigung = außerordentlich große Mengen beider Arten, daneben sehr viele Streptokokken, starke Abnahme des Bact. coli. Bei VI weniger deutliche Zu-



Abb. 11.
Nach Genuß von Reinkulturen V_8 u. E_5



Abb. 12.
Nach Genuß von Reformspeisequarg.

nahme der stäbchenförmigen Milchsäurebakterien; V_8 ist mit Sicherheit erkennbar (Abb. 11). In Vorherrschaft ein vorher nicht gefundener kleiner Streptokokkus. Bact. bifidum und coli sind ebenfalls zahlreich vorhanden.

f) Speisequarg mit 5 Reinkulturen (S_2, S_3, S_{15}, S_{17}, V_8). Die einzeln in sterilisierter Milch mit etwas Hefeextraktzusatz aufgefrischten Stämme wurden in pasteurisierte Milch übertragen. Nach der Dicklegung (ph 4,75) diente die Milch zur Quargbereitung. Säurezunahme des im Eisschrank aufbewahrten Quargs bis ph 3,9 am 4. Tag. Die Untersuchung nach 1 und 4 Tagen ergab das Vorherrschen der Volutinstäbchen S_2, S_3. I genoß am 1., 4. und 7. Tag je 200 g des sehr wohlschmeckenden Quargs. Bereits am 1. Tag nach dem Quarggenuß wie auch am 4. Tag (d. h. unmittelbar vor dem zweiten Quarggenuß) waren außerordentlich große Mengen Volutinstäbchen nachweisbar (Abb. 12). Gleichzeitig traten massenhaft vorher nicht vorhanden gewesene großzellige Streptokokken auf. Entsprechender Befund nach dem zweiten und dritten Quarggenuß. (Während

und gleich nach dem Versuch wurde — wie bei allen diesen Versuchen — selbstverständlich jeder Käsegenuß u. dgl. vermieden.)

Einfluß von Milch und Streptokokken. Da sich in manchen der vorstehenden Versuche gleichzeitig mit den verzehrten Bakterien bestimmte Streptokokkenarten im Darm in auffallender Weise anreicherten, wurden 2 Versuche mit bekannten Arten ausgeführt.

g) Streptococcus thermophilus. XI trank an 6 aufeinanderfolgenden Tagen je ½ l mit dieser Streptokokkenart gesäuerte (vor der Impfung pasteurisierte) Vollmilch. Erst am 3. Tag nach Versuchsbeginn fand sie sich wenig, am 4. und 5. Tag in sehr großen Mengen (Abb. 13). Während sich Bact. bifidum in gleicher Menge hielt, war Bact. coli schon nach einem Tag nicht mehr nachweisbar. Am 4. Tag nach Versuchsbeen-



Abb. 13. Nach Genuß von Streptoc. thermophilus (Kolonien von Bact. bifidum).

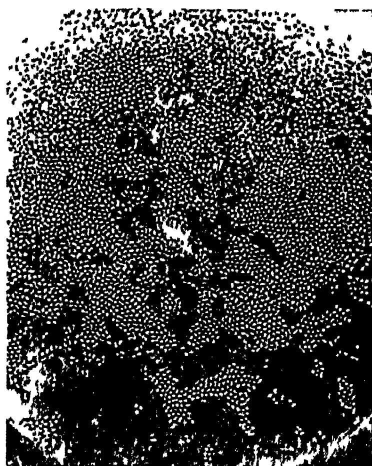


Abb. 14. Nach Genuß von Streptoc. faecium.

digung ließ sich der Streptococcus nur noch wenig, am 5. Tag fast gar nicht mehr feststellen. Coli stellt sich erst zwischen dem 6. und 9. Tag wieder ein.

h) Streptococcus faecium (St. F. a). XII genoß nur einmal ¼ l einer 2 Tage alten, mit diesem Streptococcus gesäuerten Vollmilch, sonst vorher und nachher keine Milch. Magen- und Leibschmerzen nach einigen Stunden, zeitweise noch nach 1 und 2 Tagen. In den Fäzes war diese Bakterienart schon nach 15 Std. und besonders nach 1—3 Tagen fast in Reinkultur vorhanden (Abb. 14); dann erfolgte eine schnelle Abnahme. Nur Spuren ließen sich nach 4 und 8 Tagen nachweisen. Coli, das völlig verschwunden zu sein schien, stellte sich wieder mehr und mehr ein.

F. Feigen und Datteln.

Von Metschnikoff war auch zur Anreicherung der Yoghurtmilchsäurebakterien im Darm der Genuß von Feigen und Datteln empfohlen. I und II aßen an 2 aufeinanderfolgenden Tagen je 250 g Feigen und Datteln.

Bei I ergab sich bei den Untersuchungen nach 2 und 3 Tagen starke Zunahme der Streptobakterien (und Hefen), Abnahme der Streptokokken. Bei II keine Zunahme der stäbchenförmigen Milchsaurebakterien mit Ausnahme des Bact. bifidum (Abb. 15). Äußerst starke Zunahme einer kleinen Streptokokkenart, geringere Vermehrung einer größeren Streptokokkenart.

G. Fleisch.

Ein erhöhter Fleischgenuß soll nach Angabe verschiedener Autoren die Milchsäurebakterien im Darm verdrängen, ein Streptococcus gracilis soll sich anreichern. XI nahm an 5 aufeinanderfolgenden Tagen in verschiedener Form je 500 g Fleisch zu sich. Bei den am 1., 2., 3., 4. und 5. Tag vorgenommenen Untersuchungen ließ sich gar keine Veränderung (wie vorher zahlreich Bact. bifidum, wenig Streptokokken) feststellen.



Abb. 15. Bact. bifidum.

Die wichtigsten Ergebnisse dieser Versuche sind folgende:

1. Die Versuchspersonen reagieren in verschiedener Weise auf Milchgenuß, Zuckergenuß (Feigen und Datteln) bzw. Bakterienzufuhr (Versuch A, Ee, F).

2. Milch (genugend hoch pasteurisiert) mit Milchzuckerzusatz hat am meisten Einfluß auf die Zunahme der Milchsäurebakterien des eigenen Bestandes (B).

3. Zur Ansiedlung der Milchsäurebakterien ist die gleichzeitige Zufuhr von Milch, Milchzucker oder Fruchtzucker durchaus notwendig.

4. Durch den Käsegenuß werden Milchsäurebakterien eingeführt, die sich im Darm ansiedeln können. Eine besonders wichtige Rolle spielen hierbei manche Käsestreptokokkenarten (C und D).

5. Streptokokken aus dem eigenen Bestand reichern sich auch in auffallender Weise an, wenn Milch bzw. Speisequarg mit anderen Reinkulturen genossen werden (E a, b, c, e, f).

6. Die 2 geprüften Streptokokkenarten thermophilus und faecium vermehrten sich — besonders faecium — im Darm in ungeheurer Weise. Faecium haftet sofort, auch wenn am 2. und den folgenden Tagen Milch nicht genossen wird.

7. Sämtliche geprüfte stäbchenförmige Milchsäurebakterien (E a bis E f) können sich im Darm vermehren. Am meisten betrifft dies die schnell die Milch säuernden Volutinbildner aus dem Säugling (E c, d, e).

8. Die Wiederausschaltung geht — soweit untersucht — bei Streptobacterium casei (E b) am schnellsten vor sich (3 Tage nach Versuchsbeendigung nur noch wenig vorhanden).

9. Bei weitem am längsten hielt sich im Darm eine sehr kleinzellige Käsestreptokokkenart. Bei Person I 35—38 Tage, bei II länger als 52 Tage;

Strept. faecium und thermophilus hielten sich kaum über 5 Tage (C. E g und E h).

10. Eine Wiederausschaltung der zugeführten Bakterien scheint Regel zu sein. Trotz der Milchzufuhr verschwindet der Käsestreptococcus zwischen dem 8. und 14. Tag (D) wieder.

11. Der Bestand an Coli wird durch Milchgenuß nur bisweilen (A, I) verringert. Bei Streptokokkeneinfuhr verschwindet coli fast völlig (D 5 Tage, E g, h), ebenso bei großer Einfuhr von volutinbildenden Säuglings-Milchsäurebakterien (E d).

Praktischer Nutzen der Milchsäurebakterienzufuhr.

Nach unseren Versuchen, die z. T. die von anderen Forschern erhaltenen Ergebnisse bestätigen bzw. ergänzen, gelingt eine Ansiedlung von bestimmten Milchsäurebakterienarten mit Sicherheit, wenn und solange eine wiederholte Zufuhr gleichzeitig mit Milch und Milchzucker erfolgt. Die stärksten Säurebildner aus dem Menschendarm, die bei 37° sehr schnell wachsen, werden sich wahrscheinlich auch im Darm am meisten vermehren, d. h. sich besser eignen als die gewöhnlichen Thermo- und Streptobakterienstämme des Käses. Mit der Schaffung eines besonders geeigneten Käses ist das Bakteriologische Institut in Kiel schon längere Zeit beschäftigt. Ebenso sind Versuche mit andersartigen, Milch nicht oder nur schlecht säuernden Milchsäurebakterienarten im Gange. Bei „darmgesunden" Menschen dürfte sich die Floraumstellung, d. h. eine Vermehrung des Milchsäurebakterien-Bestandes im Befinden wohl kaum bemerkbar machen, wenn man nicht Metschnikoffs Ansicht als zutreffend anerkennen will. Handelt es sich bei darmkranken Menschen um die Verdrängung einer sich primär oder sekundär als schädlich erweisenden „falschen" Darmflora, so würde die künstliche Milchsäurebakterien-Besiedlung aber durchaus in Frage kommen. Tatsache ist, daß Colibakterien sehr schnell verdrängt werden können und ebenso sicher wohl auch manche ähnlich sich verhaltende Arten, vorausgesetzt, daß sich letztere im Darm (nicht in den Gallenwegen, wie z. B. Bact. paratyphi) befinden. Hierüber könnten natürlich nur Versuche am Krankenbett entscheiden. Ebenso muß noch entschieden werden, ob die Säuglinge durch möglichst frühzeitige Fütterung mit den kräftigsten Säuglings-Milchsäurebakterien („Reformyoghurt") vor bakteriellen Darmstörungen besser geschützt werden können. Das gleiche wäre mit entsprechenden Milchsäurebakterienarten bei ganz jungen Kälbern und Ferkeln in gefährdeten Betrieben zu prüfen. Wahrscheinlich würden die ausgesuchten Arten während des ganzen Lebens festhaften oder es müßten von Zeit zu Zeit Neufütterungen (mit Milchzuckerzugabe) erfolgen.

Schlußfolgerungen und Zusammenfassung.

Die alte Sammelbezeichnung „B. acidophilus" umfaßt, wenn die Anreicherung in sauren Nährflüssigkeiten (Bierwürze und dgl.) aus den Fäces von Säuglingen geschah, Plocamobacterium vaginae, Thermobacterium lactis, Streptobacterium casei, wenn sie aus den Fäces Erwachsener vorgenommen wurde, außerdem noch Betabacterium breve und longum und andere Arten. Die in der „Bakteriologie Lehmann und Neumann" beschriebene Art: Pl. acidophilum ist nicht genügend

charakterisiert — es fehlt besonders die „Zuckerreihe“ und die Angabe, ob Volutin vorhanden ist. Die Fundortangabe: Fäces von Neugeborenen und Erwachsenen, Vagina, Frauen- und Kuhmilch, Sauerteig deutet wiederum auf eine Sammelgruppe, die mindestens Pl. vaginae und Thermob. lactis umschließt. Es dürfte sich also empfehlen, eine besondere Art Pl. acidophilum nicht aufzustellen und für die Bezeichnung „Acidophilusmilch“ die mehr neutrale „Reformyoghurt“ (Reform-Speisequarg; Reform-Käse) zu wählen (s. u.). Wenn man die Bezeichnung „acidophilus“ nicht fallen lassen will, so könnte sie für die Volutinrasse des Ploc. vaginae im Säuglingsdarm Verwendung finden (s. u.).

Die l. c. ebenfalls beschriebene Art Pl. vaginae ist auch nicht genau genug charakterisiert. Die „Zuckerreihe“ und ebenso die Angabe der Volutinlosigkeit hätten erkennen lassen, ob die für die Vagina typische und häufigste Art gemeint ist. Georg Henneberg (Dissertation 1934) unterscheidet 2 morphologisch, aber nicht physiologisch verschiedene Rassen (näheres S. 116) In der Vagina kommt seltener auch eine bisher nicht untersuchte volutinbildende Art (Rasse der vorigen oder Thermob. lactis?) vor. Wahrscheinlich werden sich bisweilen oder vorübergehend hier auch andere „Darm-Stämme“ feststellen lassen.

Im Säugling wurden von uns bisweilen — in manchen Fällen (z. B. 14tägiger Säugling) fehlen überhaupt stäbchenförmige Milchsäurebakterienarten — Pl. vaginae ohne Volutin (im Sinne von G. Henneberg), eine Abart mit Volutin, Thermob. lactis und Streptobacterium casei gefunden.

Im Erwachsenen sind von uns Pl. vaginae (volutinlos), Thermob. lactis, Streptob. casei, Betabact. longum, Bact. bifidum — von Maurer (1929) außerdem Thermob. cereale, Streptob. plantarum, Betabact. breve, Microbacterium lacticum nachgewiesen. Pl. vaginae hält sich also bisweilen von der Säuglingszeit (aus der mütterlichen Vagina stammend) her. Vielleicht betrifft dies auch einen Teil der Volutinbildner. Die übrigen können frühzeitig oder später aus Rohmilch, Käse oder anderen Nahrungsmitteln eingeschleppt sein. Der Käsegenuß ist dauernd die wichtigste Neubezugsquelle. Die stäbchenförmigen Käse-Milchsäurebakterien stammen fast sämtlich aus der Kuh (Kuhkot) z. T. auch direkt aus dem Futter, beim Schweizerkäse in der Hauptmenge aus dem Kälbermagen (Thermob. helveticum, das jetzt meist in Reinkulturen eingesät wird). Dieses Kälbermagenbakterium muß sich aus dem Thermob. lactis des Kuhdarms entwickelt haben, da über seine sonstige Herkunft (und Vorkommen) nichts bekannt ist. Auch das Thermob. bulgaricum und Jugurt im Yoghurt sind zur Gruppe „Thermob. lactis“ zu stellen. Ersteres unterscheidet sich nur unwesentlich; letzteres besonders nur durch die Volutinlosigkeit vom Thermob. lactis. Thermob. Jugurt dürfte eine im Lämmermagen entstandene volutinlose Abart (entsprechend Thermob. helveticum im Kälbermagen) sein, da es bisher sonst nirgendwo gefunden ist. Nach den morphologischen und physiologischen Eigenschaften muß Pl. vaginae ebenfalls als nahverwandt dem Thermob. lactis angesehen und daher als „Thermob. vaginae“ zur „Gruppe Thermob. lactis“ gerechnet werden. Kein Zufall dürfte es sein, daß auch in der Vagina

die volutinlose Form vorherrschend ist. Es handelt sich u. E. in allen diesen Fällen um mehr oder weniger schnell sich bildende „Standortsformen". Das Th. helveticum muß in jedem Kälbermagen neu aus dem Th. lactis entstehen, das Th. vaginae kann als solches auch aus dem Darm in die Vagina (in der es ursprünglich durch Anpassung entstand) zurückgelangen.

Sämtliche Arten des Darmes der Erwachsenen, außer Pl. vaginae, kommen auch in dem Kuhdarm (nicht im Pansen) und daher auch in den meisten, aus Rohmilch bereiteten Käsesorten vor. Im Darm der Erwachsenen sind, auch wenn 8 Tage keine Neuzufuhr durch Rohmilch- oder Käsegenuß erfolgt, nach Maurers Feststellungen immer die S. 132 genannten stäbchenförmigen Milchsäurebakterien nachzuweisen. Der mittlere Dünndarm scheint ihr Wohnplatz zu sein. Bei reichlichem Käsegenuß finden sie sich massenhaft in den Fäces. Sie durchwandern also in lebendem Zustand den Magen und vermehren sich auch im Darm. Für Thermob. lactis, Betabact. longum, Streptococcus thermophilus, faecium und eine sehr kleine Streptokokkenart wurde die Ansiedlung (Vermehrung im Darm) von uns bewiesen. Verfütterungen auch anderer Arten im Käse oder in Reinkulturen ließen, soweit geprüft, stets eine Vermehrung im Darm feststellen. Eine Daueransiedlung auf diese Weise läßt sich für manche Arten aber niemals beweisen, da wie gesagt, gleiche oder ähnliche Arten stets im Erwachsenen sind und festhaften und auch außer durch Rohmilch, Butter und Käse, durch Rohobst, Radieschen, Rettig. Salzgurken, ebenso vom Mundinnern (hohle Zähne) usw. beständig von neuem in den Darm gelangen können. Wenn eine Ansiedlung sich für bestimmte Arten beweisen ließ (Thermob. lactis, Betab. longum, Streptoc. thermophilus, faecium, sehr kleine unbestimmte Art), so immer nur eine Ansiedlung für eine gewisse Zeit. Die Wiederausschaltung der eingeführten Arten scheint — soweit untersucht — Regel zu sein. Die wirklich endemischen zur „Gleichgewichtsflora" gehörenden Darmmilchsäurebakterien dürften demnach im darmgesunden Erwachsenen unabhängig von der Neuzufuhr vom Säuglingsalter her stammen. Die festgestellte Verschiedenheit des Milchsäurebakterienbestandes in den verschiedenen Erwachsenen kann z. B. auf Verschiedenheiten der Anfangsflora (Pl. vaginae braucht durchaus nicht stets einzuwandern), auf den frühzeitigen (in der Kindheit) oder dauernden Genuß oder Nichtgenuß mancher bakterienspendenden Nahrungsmittel (Käse!), auf zu viel oder zu wenig Magensäure, Stärke der Darmschleimhautgifte, Zusammensetzung der übrigen Darmflora, Art des Colibestandes usw. zurückzuführen sein.

Therapeutisch dürfte eine mindestens öfters oder beständig zu wiederholende Verabreichung besonders kräftiger Milchsäurebakterien oder besonderer Arten, deren Anreicherung im Darm, wie wir nachweisen konnten, bei gleichzeitiger Zufütterung von Milch oder, wenn diese vermieden werden soll, von Milchzucker oder von zuckerhaltigen Früchten (Feigen, Datteln) oder stärkehaltigen Nahrungsmitteln (für Hafergrütze bereits z. T. geprüft) leicht gelingt, zur Bekämpfung einer primär oder sekundär pathogenen Darmflora von größtem Wert sein. Pathogene Stämme des Bact. coli und ebenso auch ähnliche Arten können wohl so mit Sicherheit zum Verschwinden gebracht werden. „Reform"-Buttermilch (sog. geschlagene), „Reform"-Speisequarg, „Reform"-Käse usw. mit einem Gemisch sehr kräftiger Menschen-Milchsäurebakterien wurden neben dem

„Reform“-Yoghurt von uns bereits in der Kieler Forschungsanstalt für derartige Zwecke bereitet. Auch in die jüngsten Säuglinge und in gefährdete Kälber und Ferkel könnten körpereigene, aber bisweilen fehlende oder in zu schwachen Stämmen vorhandene Arten durch entsprechende Reinkulturverfütterung gepflanzt werden. Auf diese Weise ließe sich höchstwahrscheinlich auch hier ein Schutz gegen manche bakterielle Darmkrankheiten erreichen.

Erklärungen zu den photographischen Bildern und Zeichnungen.

(Vergr. 500×, nur Bild 15 = 750×, Zeichnungen 1000×.)

Milchbakterien:

1 Thermob. lactis (Stamm 14). Würze-Peptonmolke-Federstrich, 37°.

Käsebakterien:

2 Streptobact. casei (Stamm 13). Würze-Peptonmolke-Federstrich, 37°.
3 Thermob. helveticum und Betabact. longum. Norddeutscher „Schweizerkäse“.
Abtupfpräparat (Deckglas-Petrischale. Peptonmolkeagar).

Abb. 4 (1000× vergr.) „Tier-Milchsäurebakterien“.

Milchsäurebakterien aus Magen und Darm der Kälber, Pansen der Kuh, aus Marktmilch, Yoghurt und aus dem Pferdemagen.

Kalb = Thermob. helveticum aus der Schweizerkäserei-Kultur, Milchsäurebakterien aus trockenem und frischem Magen, rechts Reinkultur daraus — aus dem Darm von 3 Kälbern (1—3).

Aus dem Pansen von 2 Kühen (1 und 2; 2 Thermob. lactis mit Volutin).

Aus 2 Marktmilchproben, beides Thermob. lactis mit Volutin.
Aus Yoghurt Thermob. bulgaricum (O. Jensen) mit Volutin.
Aus dem Magen von 2 Pferden (1 und 2).

Säuglings-Darmbakterien:

5 S_2 ähnlich Therm. lactis. Gefärbter Milchausstrich (Volutin).
6 S_{17} Pl. vaginae. Würze-Peptonmolke-Adhäsionskultur, 37°.
7 S_{18} Pl. vaginae. Würze-Federstrich.
8 S_6 ähnlich Pl. vaginae. Würze-Peptonmolke-Adhäsionskultur, 37°.

Abb. 9 (1000× vergr.) „Menschen-Milchsäurebakterien“.

Aus dem Darm Erwachsener:

1 a—d: aus Person I.
a = E_1 der Zuckerreihe.
b = E_2.
c = Betabacterium longum.
d = E_3 (Plocamobacterium vaginae).
2 a und b: aus Person II.
a = Betab. longum.
b = E 6a.

Aus dem Darm von 5 Säuglingen 1—5:

1 = S_8 Rasse des Pl. vaginae (rechts längere Stäbchen aus der Tarozzibouillon [ph 6,5]).
2 = S_{12} Streptobakterien.
3 = S_{17} Pl. vaginae.
4 = S_2 Volutinbildner, Übergangsform zu Thermob. lactis.
5 = S_4 (Volutinbildner aus Amerika, Volutin-Rasse des Pl. vaginae).

Aus der Vagina von 3 Frauen (Frauenklinik):

1 = V_8 der Zuckerreihe aus c.
2 = l_1.
3 und 4 aus p. Nur 4 gehört zur kurzzelligen, keine Ketten bildenden Gruppe; die übrigen zur häufigeren, kettenbildenden Gruppe des Ploc. vaginae.

Anmerkung während der Korrektur: Zur Zeit laufende Versuche (2 Personen) zeigen bereits, daß Th. cereale nach einmaligem Genuß sich schon länger als 3 Wochen !! im Darm hält.

Zum Vergleich: Streptob. casei aus Käse. Die untere Kette mit dickeren Zellen aus Tarozzibouillon.

10 Person I. Nach Genuß von „Schweizerkäse" mit sehr kleinen Streptokokken. Deckglas-Petrischale (Pepton-Molkeagar).

11 Person I. Nach 2 mal Milch mit Reinkulturen (V_8 und E_5) Deckglas-Petrischale (Pepton-Molkeagar).

12 Person I. 4 Tage nach „Reform-Speisequarg" (s. S. 128) Würze-Federstrich.

13 Person XI. Nach 4tägigem Genuß von Streptoc. thermophilus-Milch. Bact. bifidum-Kolonien. Deckglas-Petrischale (Milchzuckerbouillon-Agar).

14 Person XII. Nach Genuß von Streptoc. faecium. Deckglas-Petrischale (Milchzuckerbouillon-Agar).

15 Person II (750 mal). Nach 2tägigem Genuß von Feigen und Datteln. Bact. bifidum-Kolonien. Deckglas-Petrischale (Pepton-Molkeagar).

The Effect of Meat Curing Solutions on Anaerobic Bacteria.

IV. The Effect of Mixed Curing Solutions.

[Department of Bacteriology, University of Illinois Urbana, Illinois.]

Florence L. Evans and F. W. Tanner.

The origin of mixed curing solutions for meat products cannot be determined with certainty. They probably developed from salt solutions which were first used by early peoples. Later, perhaps by accident, it was observed that the addition of sodium or potassium nitrate would impart a red color to salted meats and cause them to retain some of the appearances of fresh meat.

Not much work has been done on the flora of meat curing solutions. Sturges (1) reported that such solutions for hams contained a heterogeneous flora even though fifteen per cent of salt was present. He believed that hundreds of species of bacteria might be present in old brines. The typical salt tolerant organism was a Gram negative, nitrate reducing, nonspore forming bacterium developing at low temperatures, and living in solutions with fifteen per cent of salt. It did not liquify gelatin and showed only feeble fermenting powers. Sturges and Heidemann (2) later arranged the bacteria which they isolated from curing solutions into four groups: (1) Salt Obligate; (2) Salt Preferential; (3) Salt Facultative; and (4) Salt Tolerant. They also suggested that several new genera were needed for these organisms and proposed Halococcus, Halovibrio, and Halophilus as generic names.

Results of the experiments on the influence of sodium chloride, sodium nitrate, and sodium nitrite have already been reported from this laboratory (3, 4, and 5). It was shown that sodium chloride possessed the greatest activity as a preservative, and that the preserving value of meat curing solutions must be attributed largely to this ingredient. When meat is placed in curing solutions, it carries many microorganisms of diverse characteristics. Some of these die out quickly, while others find the conditions favorable and develope. Among the latter are those which reduce nitrates to nitrites and which function in red coloration of cured meats.

Another factor influencing the behavior of bacteria in meat curing solutions is the temperature of the curing cellars. These are usually maintained at from 2.2° to 4.4° C. (36° to 40° F.). Curing at higher temperatures has been found to result in greater spoilage due, perhaps, to the fact that proteolytic bacteria are more active. Furthermore, the preservative action of low temperatures is also lost. Low temperature apparently exerts a selective action repressing spoilage bacteria and permitting those which reduce nitrates to develope. The latter apparently are not proteolytic.

The effect of salts used in curing solutions on bacteria is a subject that has received little attention. Lewis and Moran (6) studied the combined effect of sodium nitrite and sodium chloride on Clostridium sporogenes. Sodium nitrite was used in concentrations of zero to 0.2 per cent. in combination with sodium chloride concentrations up to five per cent. Proteolysis was inhibited at 0.05 per cent. sodium nitrite in all concentrations of salt from one to five per cent. for the 48 hour period. However, for the seven to fourteen day period, proteolysis was observed in all sodium nitrite concentrations in all the tubes containing zero to two per cent. sodium chloride. Proteolysis was checked in nitrite concentrations at and above 0.05 per cent. in salt concentrations from three to five per cent. In another experiment they studied the effect of sodium nitrate combined with sodium chloride, on Clostridium sporogenes. They found that one per cent. sodium nitrate with five per cent. sodium chloride inhibited proteolysis.

Results already reported (3, 4, and 5) have shown that sodium chloride was the most active constituent of meat curing solutions, influencing the growth of Clostridium botulinum, Clostridium sporogenes, and Clostridium putrificum. Neither sodium nitrite nor sodium nitrate alone in the concentrations used commercially had much effect. However, it was believed that small amounts of these salts when combined with sodium chloride, as in commercial curing solutions, might show some effect on development of anaerobic bacteria.

The following experiments were performed to determine whether or not sodium nitrite or sodium nitrate with sodium chloride in the concentrations used in curing meat had any effect on the group of putrefactive anaerobes, members of which are frequently involved in meat spoilage according to Klein (7) and McBryde (8) and others. Special attention was given to Clostridium botulinum because of the dangerous properties of the toxin formed by this organism.

Part of these tests were made with pure cultures in sterilized media and part with pure cultures in meat which had not been sterilized. Table 1 gives the source of the cultures and also shows which were used in each experiment. The medium was Stickel and Meyers (9) peptic digest. This was found to permit good growth of the organisms used, to be cheap, and easily kept in stock. It was put in large tubes (30 cc. in each), covered with paraffin, and sterilized at twenty pounds pressure for two hours. The medium was incubated one week at 37° C. and two weeks at room temperature before inoculation, as was done in the previous experiments. The reaction was adjusted to a pH of 7.4. The meat used in the second set of experiments was fresh, ground, defatted pork. After it had been mixed with the curing salts, it was stuffed into 8 inch test tubes (75 gms. in each) and stored at 10° C. for one week.

The salt mixtures used in the first experiments were four commercial cures. The individual ingredients were weighed and mixed in a mortar. Different proportions of the mixture were then added to separate lots of peptic digest medium. The proportion of salt mixture to nutrient medium varied from one half to twice the percentages specified in the original formula. Table 2 gives the original formula and the variations for each lot of medium. Analysis showed that the medium contained a little sodium chloride.

Table 1.

Name of Culture	Type	Lab.-No.	Source of Cultures
Clostr. botulinum	A	1	American Type Culture Collection No. 441
Clostr. botulinum	A	2	American Type Culture Collection No. 688
Clostr. botulinum	A	4	American Type Culture Collection No. 442
Clostr. botulinum	A	16	University of Chicago, Bact. Laboratory
Clostr. botulinum	A	17	Dr. K. F. Meyer, Hooper Foundation, San Francisco
Clostr. botulinum	A	19	Westfield, New York, Strain from outbreak
Clostr. botulinum	B	5	American Type Culture Collection No. 458
Clostr. botulinum	B	6	American Type Culture Collection No. 443
Clostr. botulinum	B	7	American Type Culture Collection No. 437
Clostr. botulinum	B	8	American Type Culture Collection No. 439
Clostr. botulinum	B	9	University of Illinois, Stock Labt. Strain
Clostr. botulinum	B	15	University of Chicago, Bact. Laboratory
Clostr. botulinum	B	18	Dr. K. F. Meyer, Hooper Foundation, San Francisco
Clostr. botulinum	B	20	Strain from Chicago onion outbreak
Clostr. sporogenes		10	American Type Culture Collection No. 685
Clostr. sporogenes		11	American Type Culture Collection No. 319
Clostr. sporogenes		14	American Type Culture Collection No. 459
Clostr. putrificum		12	American Type Culture Collection No. 679
Clostr. putrificum		13	American Type Culture Collection No. 610

Experiments with peptic digest-heart mash;
Cures I and II, cultures: 1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, and 16
Cures III and IV, cultures: 1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, and 18

Experiments with ground meat:
Cooked meat, cultures: 1, 2, 4, 5, 15, 16, 17, 18, 19, and 20
Uncooked meat, cultures: 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 15, and 16

Curing mixtures tested in ground meat differed in that the amounts of sodium chloride and sugar were constant, while the amount of sodium nitrate or sodium nitrite was varied. The salt, sugar, and nitrate or nitrite for each separate lot were weighed and thoroughly mixed in a mortar. This mixture was then incorporated in the meat. Cures containing amounts of sodium nitrite from 0.01 per cent to 0.2 per cent in steps of 0.05 per cent, and sodium nitrate from 0.1 per cent to 2.0 per cent in steps of 0.5 per cent were tested in both cooked and uncooked ground pork.

After inoculation with heated spore suspension, the peptic digest cultures were incubated for two weeks at 37° C. and at room temperature for

approximately five months. During the incubation period, observations were made at regular intervals for growth, which was indicated by the presence of gas, disintegration of the meat portion, and odor. At the end of the incubation period, a portion of each Clostridium botulinum culture was fed to a guinea pig to determine the presence of toxin.

Table 2.

	Cure I	Cure II	Cure III	Cure IV
Cure Formula	3½ lb. NaCl ½ oz. $NaNO_2$ 1 lb. sugar 100 lb. meat	3½ lb. NaCl ¼ oz. $NaNO_2$ 1 lb. sugar 100 lb. meat	4½ lb. NaCl ½ oz. $NaNO_2$ 1 lb. sugar 100 lb. meat	4½ lb. NaCl ½ oz. $NaNO_2$ 1 lb. sugar 100 lb. meat 2 oz. $NaNO_3$
Lot 1	1.75% NaCl 0.0156% $NaNO_2$ 0.5% sugar	1.75% NaCl 0.0078% $NaNO_2$ 0.5% sugar	2.25% NaCl 0.0156% $NaNO_2$ 0.5% sugar	2.25% NaCl 0.0156% $NaNO_2$ 0.0625% $NaNO_3$ 0.5% sugar
Lot 2	2 345% NaCl 0.0209% $NaNO_2$ 0.67% sugar	2.345% NaCl 0.0104% $NaNO_2$ 0.67% sugar	3.015% NaCl 0.0209% $NaNO_2$ 0.67% sugar	3.015% NaCl 0.0209% $NaNO_2$ 0.0837% $NaNO_3$ 0.67% sugar
Lot 3	2.94% NaCl 0.0262% $NaNO_2$ 0.84 %sugar	2.94% NaCl 0.0131% $NaNO_2$ 0.84% sugar	3.58% NaCl 0.0262% $NaNO_2$ 0.84% sugar	3.58% NaCl 0.0262% $NaNO_2$ 0.1087% $NaNO_3$ 0.84% sugar
Lot 4	3.5% NaCl 0.0312% $NaNO_2$ 1.0% sugar	3.5% NaCl 0 0156% $NaNO_2$ 1.0% sugar	4.5% NaCl 0.0312% $NaNO_2$ 1.0% sugar	4.5% NaCl 0.0312% $NaNO_2$ 0.125% $NaNO_3$ 1.0% sugar
Lot 5	4.655% NaCl 0.041% $NaNO_2$ 1.33% sugar	4.655% NaCl 0.0212% $NaNO_2$ 1.33% sugar	5.985% NaCl 0.0412% $NaNO_2$ 1.33% sugar	5.985% NaCl 0.0412% $NaNO_2$ 0.166% $NaNO_3$ 1.33% sugar
Lot 6	5.81% NaCl 0.0518% $NaNO_2$ 1.66% sugar	5.81% NaCl 0.0259% $NaNO_2$ 1.66% sugar	7.47% NaCl 0.0518% $NaNO_2$ 1.66% sugar	7.47% NaCl 0.0518% $NaNO_2$ 0.207% $NaNO_3$ 1.66% sugar
Lot 7	7.0% NaCl 0.0624% $NaNO_2$ 2.0% sugar	7.0% NaCl 0.0212% $NaNO_2$ 2.0% sugar	9.0% NaCl 0.0624% $NaNO_2$ 2.0% sugar	9.0% NaCl 0.0624% $NaNO_2$ 0.25% $NaNO_3$ 2.0% sugar

Part of the cured meat was covered with hot paraffin and put in the incubator immediately after it had been inoculated with detoxified spore suspensions. A duplicate set was treated the same way except that it was heated at 100° C. for ten minutes and cooled before it was put in the incubator. The periods of incubation were the same as for the peptic digest cultures at both 37° C. and at room temperature. At the end of incubation, a portion of the meat from each tube (approximately five grams) was mixed

with ten cc. of sterile water in a sterile test tube and allowed to stand overnight in the ice box. The extract was tested for toxicity by feeding one cc. to a 250 gm. guinea pig as in the other experiments.

Table 3.

Lot	Cure I		Cure II	
	Analysis	Strains Showing Growth (G) and Toxicity (T)	Analysis	Strains Showing Growth (G) and Toxicity (T)
0	0% $NaNO_2$ 1.8% NaCl	G = All strains T = 1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 15, 16	0% $NaNO_2$ 1.95% NaCl 2.02% NaCl	G = All strains T = 1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 15, 16
1	0,0015% $NaNO_2$ 0.003% $NaNO_2$ 4.07% NaCl 4.69% NaCl	G = All strains T = 1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 15, 16	00.01% $NaNO_2$ 0.0015% $NaNO_2$ 3.07% NaCl 3.52% NaCl	G = All strains T = 1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 15, 16
2	0.0025% $NaNO_2$ 0.003% $NaNO_2$ 4.54% NaCl 5.22% NaCl	G = 1, 2, 5, 7, 9, 10, 11, 12, 14. 15, 16 T = 1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 15, 16	0.003% $NaNO_2$ 3.56% NaCl 4.29% NaCl	G = 1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16 T = 1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 15, 16
3	0.004% $NaNO_2$ 4.44% NaCl 5.30% NaCl	G = 7, 9, 10, 11, 13, 14 T = 1, 2, 5, 7, 9, 15, 16	0.0015% $NaNO_2$ 4.42% NaCl 5.36% NaCl	G = 2, 5, 7, 9, 10, 11, 13, 14 T = 2, 5, 7, 8, 9, 15, 16
4	0.0035% $NaNO_2$ 0.004% $NaNO_2$ 4.83% NaCl 5.52% NaCl	G = 1, 5, 8, 10, 11, 14, 16 T = 1, 2, 5, 7, 16	0.002% $NaNO_2$ 5.2% NaCl 5.87% NaCl	G = 2, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 14, 16 T = 1, 2, 5, 6, 7, 8, 16
5	0.007% $NaNO_2$ 5.68% NaCl 6.4% NaCl	G = 9, 10, 11, 12, 14 T = 2, 7, 9	0.002% $NaNO_2$ 5.7% NaCl 6.77% NaCl	G = 7, 11, 14 T = 2, 7,
6	0.008% $NaNO_2$ 6.42% NaCl 7.98% NaCl	G = 1, 7, 10, 14 T = 7	0.0035% $NaNO_2$ 7.21% NaCl 8.97% NaCl	G = None T = None
7	0.009% $NaNO_2$ 0.01% $NaNO_2$ 6.50% NaCl 9.40% NaCl	G = 8, 16 T = None	0.004% $NaNO_2$ 9.62% NaCl 12.5% NaCl	G = None T = None

Analyses for sodium chloride and sodium nitrite were made on representative samples of peptic digest medium at the time of inoculation and on the uninoculated control tubes at the end of the preliminary incubation period. These two sets of figures showed no significant variation, so the first has been ommitted. The values obtained by analysis of the uninoculated control tubes are given in Tables 3 and 4. Sodium chloride analysis was made on the contents of each tube in two of the experiments with peptic digest medium. When growth had broken the paraffin seal, evaporation,

and consequent increase in sodium chloride concentration had occurred, otherwise the amounts did not vary appreciably from those obtained in the other analyses.

Table 4.

Lot	Cure III		Cure IV	
	Analysis	Strains Showing Growth (G) and Toxicity (T)	Analysis	Strains Showing Growth (G) and Toxicity (T)
0	0% $NaNO_2$ 1.8% NaCl 1.9% NaCl	G = All strains T = 1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 15, 16, 17, 18	0% $NaNO_2$ 1.8% NaCl	G = All Strains T = 1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 15, 16, 17, 18
1	0.0015% $NaNO_2$ 0.002% $NaNO_2$ 4.0% NaCl 4.87% NaCl	G = All strains T = 1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 15, 16, 17, 18	0.002% $NaNO_2$ 4.6% NaCl 5.23% NaCl	G = All Strains T = 1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 15, 16, 17, 18
2	0.003% $NaNO_2$ 4.1% NaCl 5.1% NaCl	G = 1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18 T = 1, 2, 5, 6, 8, 9, 15, 16, 17, 18	0.003% $NaNO_2$ 4.72% NaCl 5.64% NaCl	G = All Strains T = 1, 2, 6, 7, 9, 15, 16, 17, 18
3	0.003% $NaNO_2$ 0.004% $NaNO_2$ 5.23 %NaCl 6.30% NaCl	G = 2, 6, 9, 10, 11, 14, 15, 17 T = 2, 5, 6, 7, 8, 9, 15, 17	0.003 $NaNO_2$% 0.004% $NaNO_2$ 5.68% NaCl 6.5% NaCl	G = 2, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 14, 15, 17, 18 T = 2, 5, 6, 7, 8, 9, 15, 17, 18
4	0.0055% $NaNO_2$ 0.006% $NaNO_2$ 6.59% NaCl 7.67% NaCl	G = 6, 7, 10, 14, 17 T = 6, 7	0.004% $NaNO_2$ 0.006% $NaNO_2$ 6.4% NaCl 7.83% NaCl	G = 2, 9, 10, 14 T = 2, 6, 9, 17
5	0.0081% $NaNO_2$ 0.008% $NaNO_2$ 8.08% NaCl 9.55% NaCl	G = 6, 10, 14 T = 6	0.006% $NaNO_2$ 8.0% NaCl 9.4% NaCl	G = 9, 14 T = 2
6	0.008% $NaNO_2$ 9.23% NaCl 10.82% NaCl	G = None T = None	0.0075% $NaNO_2$ 0.01% $NaNO_2$ 9.53% NaCl 10.42% NaCl	G = None T = None
7	0.009% $NaNO_2$ 10.06% NaCl 12.0% NaCl	G = None T = None	0.008% $NaNO_2$ 0.01% $NaNO_2$ 10.12% NaCl 12.0% NaCl	G = None T = None

Representative samples from each lot of the ground meat were analyzed at the time of inoculation either with or without cooking, depending on the experiment. Moisture, hydrogen ion concentration, sodium chloride, and sodium nitrite were determined quantitatively in each case. These values are given in Tables 5 and 6, columns 1 and 4. Every tube of meat was analyzed for sodium chloride, sodium nitrite, and pH at the end of the incubation period. The figures given in Tables 5 and 6, 2nd and 5th columns are averages of the values obtained on the last analysis.

Table 5. Cooked Meat.

Sodium Nitrate Cures			Sodium Nitrite Cures		
Analysis at Beginning	Average of Anal. at End	No. of Strains Prod. Toxin	Analysis at Beginning	Average of Anal. at End	No. of Strains Prod. Toxin
NaCl 3.29% $NaNO_2$ 10 ppm. pH 6.6 Moist. 58.94%	NaCl 2.74% $NaNO_2$ 0.5 ppm. pH 6.9	1, 2, 4, 5. 15, 16, 17, 18, 19, 20	NaCl 3.57% $NaNO_2$ 20 ppm. pH 6.8 Moist. 57.24%	NaCl 3.46% $NaNO_2$ 0.12 ppm. pH 6.37	1, 2, 4, 5, 15, 16, 17, 18, 19, 20
NaCl 3.38% $NaNO_2$ 5 ppm. pH 6.8 Moist. 58.76%	NaCl 2.91% $NaNO_2$ 0 pH 6.91	1, 2, 4, 5, 16, 17, 18, 19, 20	NaCl 3.61% $NaNO_2$ 35 ppm. pH 6.8 Moist. 57.55%	NaCl 3.46% $NaNO_2$ 0.56 ppm. pH 6.57	1, 2, 4, 15, 16, 17, 88, 19, 20
NaCl 3.51% $NaNO_2$ 10 ppm. pH 6.8 Moist. 57.97%	NaCl 3.10% $NaNO_3$ 46.1 ppm. pH 7.55	1, 2, 4, 18, 19	NaCl 3.84% $NaNO_2$ 75 ppm. pH 7.0 Moist. 54.63	NaCl 3.7% $NaNO_2$ 0.15 ppm. pH 6.74	4, 15, 17, 19
NaCl 3.33% $NaNO_2$ 35 ppm. pH 6.8 Moist. 59.03%	NaCl 2.66% $NaNO_2$ 154.7ppm pH 7.84	2, 4, 15, 18, 19, 20	NaCl 3.75% $NaNO_2$ 175ppm. pH 6.8 Moist. 55.04%	NaCl 3.78% $NaNO_2$ 1.22 ppm. pH 6.9	4, 20
NaCl 3.24% $NaNO_2$ 20 ppm. pH 6.6 Moist. 58.98%	NaCl 2.8% $NaNO_2$308.7ppm. pH 8.18	1, 5, 18, 19, 20	NaCl 3.57% $NaNO_2$ 250 ppm. pH 7.0 Moist. 53.19%	NaCl 3.62% $NaNO_2$ 2.32 ppm. pH 7.0	1, 2, 17, 18, 19

Table 6. Uncooked Meat.

Sodium Nitrate Cures			Sodium Nitrite Cures		
Analysis at Beginning	Average of Anal. at End	No. of Strains Prod. Toxin	Analysis at Beginning	Average of Anal. at End	No. of Strains Prod. Toxin
NaCl 3.51% $NaNO_2$ 15 ppm. pH 6.0 Moist. 58.95%	NaCl 3.69% $NaNO_2$ 0 pH 4.49		NaCl 3.54% $NaNO_2$ 2.5 ppm. pH 6.0 Moist. 58.8%	NaCl 3.48% $NaNO_2$ 0 pH 4.66	
NaCl 3.87% $NaNO_2$ 0 pH 6.2 Moist. 53.8%	NaCl 3.49% $NaNO_2$ 2.2 ppm. pH 4.6	7	NaCl 3.44% $NaNO_2$ 15 ppm. pH 6.0 Moist. 54.15%	NaCl 3.79% $NaNO_2$ 0 pH 4.5	2
NaCl 4.03% $NaNO_2$ 2.5 ppm. pH 6.0 Moist. 58.88%	NaCl 3.64% $NaNO_2$ 1.1 ppm. pH 4.68		NaCl 3.58% $NaNO_2$ 50 ppm. pH 6.0 Moist. 53.5%	NaCl 3.76% $NaNO_2$ 0 pH 4.65	6
NaCl 3.38% $NaNO_2$ 5 ppm. pH 6.0 Moist. 58.88%	NaCl 3.61% $NaNO_2$ 46.3 ppm. pH 5.2	2	NaCl 3.81% $NaNO_2$ 125ppm. pH 6.2 Moist. 54.58%	NaCl 3.45% $NaNO_2$ 1.37 ppm. pH 4.67	
NaCl 3.93% $NaNO_2$ 0 pH 5.8 Moist. 51.37%	NaCl 3.66% $NaNO_2$ 50.77ppm pH 5.3		NaCl 3.51% $NaNO_2$ 150 ppm. pH 6.0 Moist. 53.83%	NaCl 3.55% $NaNO_2$ 0 pH 4.7	

The methods of analysis were somewhat different from those used in earlier experiments. The chief difference was in the reagent for the nitrite test. The presence of sodium chloride interfered with the determination when the reagent was prepared according to the method given in the Standard Methods for the Examination of Water and Sewage (1925). The reagent used under these conditions had a different composition[1]).

When ground pork or the meat portion of peptic digest medium was analyzed, an extract had to be prepared. Fifty grams of ground meat were weighed quickly, and put in a 500 cc. volumetric Erlenmeyer flask with approximately 250 cc. of nitrite free distilled water, loosely corked, and cooked two hours on the steam bath. The samples were cooled in running water and diluted to the 500 cc. mark with nitrite free water. After shaking thoroughly, ten cc. were removed for sodium chloride determination. A small part of the remainder was filtered, and a suitable aliquot (usually one cc.) was used for the sodium nitrite determination[2]).

Sodium chloride was determined by titration with standardized silver nitrate solution in the presence of chromate indicator according to the Standard Methods for the Examination of Water and Sewage (1925). The percentage of moisture was obtained by weighing ten grams of ground meat rapidly in a tared evaporating dish, drying at 85—90° C. for ten hours, cooling in a desicator, and reweighing. The loss multiplied by ten equaled the per cent. of moisture. Hydrogen-ion concentration was determined by adding the indicator to a $^1/_{10}$ extract of the sample and comparing with standards on a Lamotte Roulette comparator.

Results of these experiments in which different amounts of curing mixtures were added to nutrient medium, showed that larger quantities were necessary to inhibit the growth of Clostridium botulinum, Clostridium putrificum, and Clostridium sporogenes, and toxin formation by Clostridium botulinum than are ordinarily used in meat curing (Tables 3 and 4). Examination of the data indicates that the active ingredient in inhibiting growth is sodium chloride. In every case, the lot of medium that contained concentrations of curing mixtures sufficient to prevent growth showed, upon analysis, concentrations of sodium chloride comparable to those that proved effective in previous experiments (3) when this compound was tested alone. On the other hand, the largest percentage of sodium nitrite found was approximately one sixth as much as the smallest amount tested in the nitrite experiments (5) (Tables 3 and 4).

The amount of sodium nitrite shown by analysis for cure I at the time of inoculation, varied from 0.001% to 0.008%, and the analysis at the end of the experimental period gave values of 0.0015% to 0.01%. The highest value obtained is still only one fifth of the lowest value tested in the nitrite

---

[1]) Boil one gram alpha-naphthylamine-hydrochloride until dissolved in less than 200 cc. nitrite free, distilled water. Cool, filter, and make up the volume to 200 cc. Two grams sulphanilic acid dissolved in 200 cc. nitrite free distilled water. Combine the two solutions and add ten cc. concentrated hydrochloric acid. Use two cc. for each test and read after standing thirty minutes. Do not allow to stand more than one hour before reading. Reagent recommended by the Research Lab. of the Institute of American Meat Packers. Sodium nitrite standard was prepared, and the determination was carried out according to the method given in the Standard Methods for the Examination of Water and Sewage (1925).

[2]) Adaptation from the method of the A. O. A. C., 2nd Edition, 1925, p. 240

experiments (5). The sodium chloride values, on the other hand, approximate the range found to be effective when this salt was used alone (3). The lower values are those which were obtained by analysis of the meat fraction of the medium, and the larger ones, by analysis of the liquid portion. The latter are used in these experiments for purpose of comparison. Also, the values obtained in the later analysis were selected arbitrarily for use in the tables, although there was no significant variation in the two sets of figures.

The organisms used in this experiment grew consistantly in the first two lots of medium, but in the others skips began to appear showing that the concentration of curing salts was beginning to affect the anaerobes. Both growth and toxin production became irregular in the higher concentrations. Lot 7, which represented about twice the amount used in commercial meat curing, repressed toxin formation by all strains of Clostridium botulinum, but failed to completely inhibit growth. Two cultures gave evidence of growth in this last concentration.

The highest concentration contained 9.4% to 9.55% sodium chloride; yet two cultures grew in it. This concentration approached that found to be effective when sodium chloride was used alone. Lot 4, which represented the same proportion of curing mixture used in practice, permitted the growth of seven of the fourteen strains tested, and toxin production by five of the nine strains of Clostridium botulinum. The sodium chloride concentration for this lot was 5.5%.

In the experiment with Curing mixture II, the amount of sodium nitrite found by analysis was smaller than in the preceeding ones. Analysis of the medium at the time of inoculation showed a range of 0.0015% to 0.004%. Analysis of uninoculated samples at the end of the experiment gave 0.001% to 0.004%. The analysis for sodium chloride gave values ranging from 3.4% to 11.05% at the beginning, and from 3.52% to 12.5% at the end of the experiment. This range included the maximum concentrations at which these organisms would still grow when salt alone was tested.

The same strains of putrefactive anaerobes were used here as in the experiment with Cure I. Nine of them grew in lot 4 which represents the concentration used in meat curing. The concentration of sodium chloride found in samples from this lot was 5.79% to 5.87%. None of the cultures grew or formed toxin in lots 6 or 7. The concentration of sodium chloride in lot 6 was 8.97% to 9.06%, and that in lot 7 was 11.04% to 12.5%.

Analysis of samples from Cure III for sodium nitrite gave concentrations similar to those obtained in the first experiment. The range was from 0.002% to 0.01% before and 0.002% to 0.009% after incubation. The concentration of sodium chloride ranged from 5.03% to 11.97% before incubation and from 4.87% to 12.0% after incubation. These higher concentrations should have proven effective in preventing growth and toxin formation by these cultures, according to the results of the work with sodium chloride (3).

The two lots of medium containing the largest concentration of curing mixture did not permit growth or toxin production by any of the cultures used. Three of the sixteen grew in lot 5 and one Clostridium botulinum strain produced toxin. Lot 4, which contained the proportion of mixture usually used in practical meat curing supported growth of five Clostridium botulinum strains, and toxin production by two.

In Cure IV, the range of sodium nitrite given by analysis was 0.0015% to 0.012% before and from 0.002% to 0.01% at the end of incubation. These

values are not much different from those reported for curing mixtures I and III. Sodium chloride range by analysis, was from 5.06% to 12.043% at the beginning, and 5.23% to 12% at the end of the experiment. This range includes the concentrations of salt that have been shown to be effective in preventing growth and toxin formation by these organisms.

Sixteen strains of anaerobic spore formers were used in this experiment. Of these, four grew and four Clostridium botulinum strains formed toxin in lot 4, which represents the proportion of curing mixture to medium that would be used in commercial curing. The salt concentrations shown by analysis were 6.31% to 5.75% at the beginning, and 6.4% to 7.83% at the end of the experiment. Lot 6, showing sodium chloride values of 9.31% to 10.3% before, and 9.53% to 10.42% after incubation. inhibited both growth and toxin production of all strains used. This was also true of lot 7 which contained twice as much salt-mixture as usually used. The effective values are practically the same as those obtained with sodium chloride alone.

Ground, uncooked meat, to which 3.5% sodium chloride, one per cent of sugar, and 0.1% to 2.0% sodium nitrate or 0.01% to 0.2% of sodium nitrite had been added, spoiled in a short time when it was inoculated with Clostridium botulinum, regardless of the cure used. Spoilage was greater in meat containing the two highest nitrate cures. Only in a few instances, however, did this uncooked meat prove toxic (Table 6). Our results with uncooked meat agree with those secured by others showing that the indigenous flora of microorganisms may prevent the appearance of toxin in mixed cultures.

Cooked meat spoiled under the conditions of the experiment, but that to which the larger amounts of sodium nitrite had been added seemed to be in better condition; and less gas was formed than was the case with meat containing nitrate and smaller amounts of nitrite. The high nitrate cures permitted more spoilage than any of the others used in cooked meat. Toxin was formed in cooked meat throughout the entire range of sodium nitrate and sodium nitrite concentrations. However, the number of cultures that proved toxic was smaller in the higher concentrations of both nitrate and nitrite salts. It was noted that the reaction was alkaline and that ammonia was present when 1.5 per cent and 2 per cent sodium nitrate, had been added to cooked meat. It was also observed that a larger amount of liquid separated from the meat in the tubes to which 0.15% and 0.2% sodium nitrite had been added, than in the case of meat given other cures. Tables 5 and 6 give the toxicity data and analyses for experiments with cooked and uncooked ground pork.

Discussion: The results of previous experiments indicated that the individual ingredients used in curing mixtures did not affect the growth of putrefactive anaerobes in the concentrations used under commercial conditions, provided other conditions are favorable for growth. These results were borne out by testing different quantities of curing mixtures in peptic digest medium. In all cases, the lot of medium to which the recommended proportion had been added, supported growth and toxin formation. However, there are several factors that must be taken into consideration in interpreting these results. The medium contained a little sodium chloride and the amount was materially increased in all lots by evaporation during sterilization. Also, the amount of sodium nitrite was reduced considerably

by sterilization. This decrease in sodium nitrite content may be similar to that which occurs during the curing of meat due to bacterial action. The result was that amounts of sodium nitrite from 0.001% to 0.01% were tested in combination with sodium chloride concentrations of 3.5% to 12%. The figures for sodium nitrite approximate those from analyses of cured meat reported by Lewis and Vose (10). The lowest value they gave was 0.00125% for nitrite cured beef hams and the highest value (satisfactory cure) was 0.007% for nitrate cured pork hams. In these experiments, the concentrations of sodium nitrite found appeared to have no effect on the course of the experiment.

The amounts of sodium nitrite were comparatively small. The lowest concentration that was tested in the experiments on sodium nitrite alone was 0.0588%; it was found to be ineffective (5). In this series of tests, the largest amount of this compound that was added to the medium was 0.0624%; this had been largely destroyed in the process of sterilization. The largest amount of sodium nitrite found by analysis was 0.012%. The quantities of this salt that were present in the concentrations of the curing mixtures that inhibited growth were 0.0035% in the case of Cure II, 0.008% for Cure III, and 0.01% in the case of the fourth cure. Cure I which failed to inhibit all strains, contained 0.01% of sodium nitrite in lot 7 (the highest concentration used).

Two sets of figures are given for salt concentration in tables 3 and 4. The higher value was obtained by analysis of the liquid and the smaller one by analysis of the meat of the peptic digest medium. If it is assumed that the salt was dissolved in the moisture, and that the meat contained sixty per cent. of moisture, the percentage of salt given for the meat portion actually represents a concentration higher than that in the liquid portion. For instance, Cure I, lot 7 showed 9.4% in the liquid and 5.6% in the meat portion. If the latter value is calculated according to the above premis, it becomes 10.8% sodium chloride. This may or may not be the true explanation of the lower quantity of salt in the meat portion. Some additional data on this point are given by the analysis of cured, canned meat in which a liquid is expressed containing a higher concentration of salt than the meat[1]).

The results obtained in this work indicate again that the most effective component in curing mixtures is sodium chloride. The amounts ordinarily used for curing meats are not sufficient to inhibit all strains of Clostridium botulinum, Clostridium putrificum, and Clostridium sporogenes. When the various curing mixtures were used in amounts sufficient to inhibit growth of all strains, the salt concentrations were very close to the effective concentrations of sodium chloride alone. The values varied slightly from one experiment to another. The first cure failed to repress all growth in any concentration used. The highest salt concentration was 9.4% in this case. The second cure repressed all growth when the salt concentration was shown to be 8.97%, and the third was effective when the salt concentration reached 10.8%, and the fourth inhibited all of these organisms only when the salt concentration approached 10.4%.

In all these experiments care was taken to maintain uniform conditions of growth, but in the experiments with meat, two important factors were

[1]) Examination of commercially, and experimentally canned meat at the University of Illinois Bacteriological Laboratory.

altered. The hydrogen ion concentration had heretofore been adjusted to pH 7.4. With raw meat it was found to be about pH 6.0 at the beginning of the experiment. Cooked meat was more nearly neutral as the pH at the time of inoculation was about 6.8. This was still considerably more acid than the nutrient medium previously used. No attempt was made to sterilize the ground pork used in the cured meat experiments, and consequently, the bacterial flora of the meat may have influenced the results. In the uncooked meat the reaction became decidedly acid upon incubation, and this together with the initial acidity probably accounts for the scarcity of toxic samples. In the other experiment, all but the resistant spore forming organisms were probably destroyed by heating for ten minutes at 100° C. The reaction of these tubes remained approximately the same or became, slightly more acid upon incubation, except when 1.5 per cent. and 2 per cent. sodium nitrate had been used in the curing mixture. In these cases a decided alkaline reaction developed and an odor of ammonia was noticeable when the tubes were first opened. Numerous toxic samples were found in all lots of the cooked meat. It seems probable, that in these experiments, hydrogen ion concentration had more influence on toxin production by Clostridium botulinum than did the concentration of any of the salts used.

All of the meat spoiled; i. e. gas was formed, the meat changed in color or consistancy, and an odor different from that of fresh cured meat developed, regardless of the amount of sodium nitrate, or sodium nitrite used in the cure. In the case of raw meat, the most evident spoilage was found in that which had received 1.5 per cent. and two per cent. nitrate cures. In these cases the meat was a foul, brown or greyish, slimy mass. It was also observed that the uncooked meat which had been given 0.15 per cent. and 0.2 per cent. nitrite cures was in worse condition than the corresponding samples which had received milder cures. As very few of these samples proved toxic, the spoilage of uncooked meat was probably due to the bacteria already in the meat, and not to Clostridium botulinum.

Quite a different type of spoilage was found in the cooked meat samples and a definite group of conditions seemed to be associated with toxicity. Such samples were soft, but not slimy, and could be spread on a flat surface with a spatula like soft cheese. The meat formed a thick, smooth suspension when mixed with water. The odor of these samples suggested a rather strong, rancid cheese. The odor was very characteristic and could often be detected even though the cultures had putrified. These are the classical indications of botulinus spoilage as described by van Ermengem (11). As in the case of uncooked meat, 1.5 per cent. and 2 per cent. sodium nitrate cures permitted more evident spoilage than any of the others. These samples were soupy and putrid, and when first opened, an odor of ammonia was apparent. The samples having the least amount of spoilage were those receiving 0.15 per cent. and 0.2 per cent. sodium nitrite cures (cooked meat).

The amount of sodium chloride in the ground pork was fairly constant, considering unavoidable irregularities in mixing. According to the premise that the sodium chloride is dissolved mainly in the water of the meat, values approximating 3.5 per cent. by analysis increase to about six per cent. In either case, the values are lower than those found to be effective for all strains when sodium chloride was tested alone.

The sodium nitrite concentration in nitrate cured meat was low and very irregular at the time of inoculation. During incubation, the nitrite

concentration increased. At the end of the experimental period, large amounts were present in the higher nitrate cures, while little or none could be found in meat that been had given milder nitrate cures. The reverse condition was true of nitrite cured meat. In this case, considerable sodium nitrite was present at the time of inoculation, and at the end of the incubation period practically all of it had disappeared. The presence of 175 to 250 parts per million (0.0175—0.025 per cent.) of sodium nitrite at the beginning of the experiment reduced spoilage in cooked meat although it did not prevent it altogether. Neither did it prevent toxin formation by Clostridium botulinum.

Conclusions.

1. Four commercial curing mixtures used under laboratory conditions failed to inhibit growth of Clostridium botulinum types A and B, Clostridium putrificum, and Clostridium sporogenes, or toxin formation by Clostridium botulinum, when they were used in the proportions called for in the formula.

2. Commercial curing mixtures were effective in preventing growth and toxin formation when the proportions of curing mixture to medium were such that the critical concentrations of sodium chloride was approximated.

3. The sodium nitrite present apparently produced no effect on these organisms.

4. Spoilage of cooked and uncooked meat was not prevented by 3.5 per cent sodium chloride in combination with 0.1 per cent to 2 per cent sodium nitrate, or 0.01 per cent to 0.2 per cent sodium nitrite added to the meat.

5. The repression of toxin formation by Clostridium botulinum in uncooked meat was due to the acid reaction of the meat.

6. None of the cures completely inhibited toxin formation by Clostridium botulinum in cooked meat.

Bibliography.

1. Sturges, W. S., Studies on Halophylic Microorganisms. (Abst. Bact. Vol. 7. 1923. p. 11.) — 2. Sturges, W. S., and Heideman, A. G., Studies of Halophilic Microorganisms. II. The Flora of Meat Curing Solutions. (Abst. Bact. Vol. 8. 1924. p. 14.) — 3. Tanner, Fred W., and Evans, Florence L., Effect of Meat Curing Solutions on Anaerobic Bacteria. I. Sodium Chloride. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 88. 1933. S. 44—54.) — 4. Tanner, Fred W., and Evans, Florence L., Effect of Meat Curing Solutions on Anaerobic Bacteria. II. Sodium Nitrate. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 89. 1933. S. 48—54.) — 5. Tanner, Fred W., and Evans, Florence L., Effect of Meat Curing Solutions on Anaerobic Bacteria. III. Sodium Nitrite. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 91. 1934. S. 1—14.) — 6. Lewis, W. L., and Moran, J., The Present Status of Our Knowledge of Ham Souring. (Inst. Amer. Meat Packers. Bull. IV. 1929. pp. 140.) — 7. Klein, E., On the Nature and Cause of Taint in Miscured Hams. (Lancet. Vol. 174. p. 1832.) — 8. McBryde, C. N., A Bacteriological Study of Ham Souring. (U. S. Dept. Agr., Bur. Anim. Ind. Bull. 132. 1911. pp. 55.) — 9. Stickel, J. E., and Meyer, K. F., Peptic and Tryptic Digestion Products as Inexpensive Culture Medium for Routine Bacteriological Work (Journ. Infec. Dis. Vol. 23. 1918. p. 68—81.) — 10. Lewis, W. L., and Vose, R. S., The Use of Sodium Nitrite in Curing Meat. (Dept. Scientific Res., Inst. Amer. Meat Packers, Chicago. 1929.) — 11. van Ermengem, E., Contribution à l'étude des intoxications alimentaires. Recherches sur des accidents à caractères botuliniquées provoques par du Jambon. (Arch. d. Pharmacodynamie. Vol. 3. 1897. p. 213—356, and 496—601.)

Referate.

Allgemeines und Methodisches.

Inouye, T., Eine präzise Vollpipette für kleine Flüssigkeitsmengen. (Münch. med. Wochenschr. Jahrg. 81. 1934. S. 647.)

Zum Pipettieren kleiner Flüssigkeitsmengen wird eine Pipette empfohlen, bei der die Entleerung nicht durch Ausblasen zu erfolgen hat. Dadurch ist Gewähr gegeben für größte Genauigkeit; auch sind Verunreinigungen von seiten der kohlensäurereichen Exspirationsluft, Speichelflüssigkeit usw. ausgeschlossen. Die Pipette besitzt zwei Ausbuchtungen, wodurch mit ein und derselben Pipette zwei verschieden große Volumina abgemessen werden können. Beim Pipettieren von giftigen Flüssigkeiten kann die obere Ausbuchtung als Sicherheitsvorrichtung gebraucht werden.

Rodenkirchen (Königsberg Pr.).

Seifried, O., Kippbares Serienfärbegestell (für eingebaute Tischbecken benutzbar). (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 131. 1934. S. 397—398.)

Zweck und Vorzüge der von der Fa. H. Hauptner, Berlin NW 6, Luisenstr. 56, in verschiedener Ausführung und Größe lieferbaren Gestelles sind: Der Färberahmen kann nach zwei Seiten gekippt und schnell und sicher in der Horizontalen fixiert werden. Daher ist das Gestell zum Schwenken, Abkippen und Abspülen der Farbe im besonderen bei der Serienfärbung geeignet (nicht jeder Objektträger braucht einzeln angefaßt zu werden). Spülung mit Spritzflasche oder mit Gummischlauch versehenem Wasserhahn. Sauberes Arbeiten ist also gewährleistet. Bei Verwendung an Tischbecken kann das Färbegestell auf Gleitschienen weggeschoben oder ganz weggenommen werden. Der Gasbrenner kann mit Klemmschraube an einem Ständer befestigt werden. Ferner besteht die Möglichkeit, auf dem Objektauflagerahmen eine Kupferplatte festzuklemmen und als Heizplatte zu gebrauchen. Das Gestell ist auch zerlegbar und kann leicht mitgeführt werden.

Rodenkirchen (Königsberg Pr.).

Rjachowski, W., Über Anwendung von Pflanzennährböden in der bakteriologischen Praxis. (Laboratoriumpraxis. Nr. 3. 1934. S. 6—8.) [Russisch.]

Verschiedene Mikroorganismen entwickeln sich gut auf flüssigen und festen Nährböden aus Weizen, Hafer, Soja und türkischen Bohnen. Die in diesen Nährböden enthaltenen Kohlenhydrate hindern das Studium der biochemischen Eigenschaften der Gruppe Coli-Typhus nicht.

A. Imšenecki (Leningrad).

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virusuntersuchungen.

Israilsky, W. P., Pleomorphismus der Knöllchenbakterien. (Bull. of the State Inst. of Agric. Microbiol. USSR. Vol. 5. 1933. p. 67—81.) [Russ. m. deutsch. Zusfassg.]

Nach Beobachtungen des Verf.s unterscheiden sich die dissoziierenden Rassen (S-, R- und Übergangsformen [0]) von Knöllchenbakterien ein und derselben Art z. T. dermaßen, daß sie verschiedene Arten vortäuschen können. Die stark schleimig wachsenden S-Formen zeichnen sich in physiologischer Hinsicht allgemein durch größere Aktivität aus, z. B. bei der Säurebildung

aus Kohlehydraten. In flüssigen Medien bilden die S-Formen Bakteroiden, die R-Formen dagegen nicht. Diese sind durch „Sternbildung“ und stärkere Differenzierung des Protoplasmas charakterisiert. Durch Einwirkung des Bakteriophagen sollen sich stets R- und O-Formen sowie reichlich Bakteroiden und auf den Verzweigungen derselben „Gonidien“ bilden. Bei den Bakterien der Wicke und der Soyabohne glaubt Verf. auch ein filtrierbares Stadium gefunden zu haben. Die zugehörigen Bakterienkolonien bestanden aus typischen Bakteroiden. Aus der Beobachtung, daß die S-Form der Wickenbakterien Knöllchen bildet, in denen außer den S- auch R- und O-Formen wiedergefunden wurden, und ferner daraus, daß sich der Bakteriophage in den Knöllchen bilden soll, zieht Verf. den Schluß, „daß die Wechselbeziehungen zwischen den Pflanzen und den Bakterien einen mehr biologischen als physiologischen Charakter besitzen“.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Sobernheim, G., Über das Bacterium typhi flavum. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 131. 1934. S. 374—389.)

Aus 4 verschiedenen Gelbstämmen konnten, angeblich unter Ausschaltung jeder Fehlerquelle, kulturell und serologisch einwandfreie Typhusbazillen herausgezüchtet werden. Es gelang dies auf dem Wege täglicher Überimpfung nach 65—96 Passagen. In gleicher Weise wurde bei Wiederholung des Versuches die Umzüchtung von 3 Stämmen in Paratyphus B-Bazillen erzielt. Passagedauer 53—95 Tage. Die Paratyphusbazillen schienen teils direkt, teils auf dem Umwege über den Typhusbazillus aus dem gelben Ausgangsstamm hervorzugehen. Damit wäre eine Bestätigung der von Dresel und seinen Mitarbeitern erhobenen Befunde erbracht und die Zahl der umgezüchteten Kulturen beträgt nunmehr 27. Bevor jedoch diese Befunde nicht durch Einzellkulturen ihre Bestätigung gefunden haben, können die Zweifel von anderer Seite nicht als überwunden gelten.

Rodenkirchen (Königsberg Pr.).

Fortner, F., Kulturelle und mikroskopische Untersuchungen über das sogenannte Bacterium typhi flavum. (Dtsch. med. Wochenschr. Jahrg. 60. 1934. S. 785—788.)

Versuche, durch Schrägagarpassagen bei 37° in 1—2tägigem Wechsel Gelbkeime in Typhusbazillen und umgekehrt umzuwandeln, führten zu keinem positiven Ergebnis, abgesehen von mehreren unwesentlichen Variationen. Dabei wurden 10 Gelbkeime, die z. T. von Dresel stammten, und 2 Typhusstämme in je 220 Passagen fortgezüchtet. Die grundlegenden Unterschiede zwischen beiden Keimarten (die Gelbkeime und ihre Varianten röten die Saccharose-Lackmus-Lösung und verflüssigen die Gelatine, die Typhusbazillen niemals) waren konstant. Die Befunde von Dresel und Mitarbeitern, von Großmann und von Sobernheim konnten somit nicht bestätigt werden. Zur Kritik wird gesagt, daß die Variationsforschung, insbesondere bei Gelbkeimen, von der Einzellkultur ausgehen müsse.

Rodenkirchen (Königsberg Pr.).

Szathmáry, J. v., Variabilitätsstudien an Vibrionen. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 131. 1934. S. 366—374.)

Es wurde untersucht, inwieweit gewisse biologische Eigenschaften von Wasservibrionen durch Organpassage verändert werden können. In Gegenwart von Kaninchenblutkörperchen wurde die hämolytische Kraft der Vibrionen gesteigert, die Gelatineverflüssigung beschleunigt. Dagegen die

Milchgerinnung aufgehoben. Die Agglutinabilität steigerte sich, durch Darmpassagen wurde ebenfalls die Milchgerinnung aufgehoben. Die Gelatineverflüssigung aber verzögert und die Verdauung von geronnenem Blutserum zuerst verzögert, dann jedoch ganz aufgehoben. Diese Degenerationen scheinen zunächst irreversibler Natur zu sein, da sie selbst nach 31 Passagen (nach Ausschaltung der schädigenden Einflüsse) bestehen blieben.

Rodenkirchen (Königsberg Pr.).

Botgaris, A., Zur Frage des Ultravirus der Tuberkulose. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 131. 1934. S. 276—288.)

Nicht alle granulären oder kokkoiden säure-alkoholfesten Formen dürfen als tuberkelbazillenartige, nicht einmal immer als bakterielle Formen aufgefaßt werden; sie kommen auch in ganz gesunden und nicht geimpften Tieren vor. — Es wird die Hypothese aufgestellt, daß der Tuberkelbazillus zwei Entwicklungszyklen durchmachen kann, daß außer der bazillären Form auch ein filtrierbares Virus besteht, das sich zur typischen Bazillenform entwickeln kann. Es ergab sich nämlich, daß das Ultrafiltrat in den Organen zu Veränderungen führte, die pathologisch-anatomisch als Entzündungsprozesse festgestellt wurden. Verf. schließt daraus auf das Vorhandensein von Substanzen im Ultrafiltrat und vermutet eben, daß es sich um lebende Elemente handelt. Der Beweis hierfür steht noch aus.

Rodenkirchen (Königsberg Pr.).

Meyer, K., Zur Biologie der hämophilen Bakterien. I. Mitteilung: Über die Natur des V-Faktors. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 131. 1934. S. 289—290.)

Thjötta und Avery hatten festgestellt, daß der Influenzabazillus zu seiner Vermehrung im besonderen zweier Faktoren bedürfe. Den einen davon bezeichneten sie als V-Faktor, weil er sich wie ein Vitamin verhielt. Vorkommen und Eigenschaften des V-Faktors decken sich weitgehend mit denen des Vitamin C. Wie die Untersuchungen Verf.s aber beweisen, sind sie nicht identisch, weshalb auch das Vitamin C nicht imstande ist, den von den Influenzabazillen benötigten V-Faktor zu ersetzen.

—, —, II. Mitteilung: Über die Inaktivierung des V-Faktor durch Blutkörperchenstromata. (Ebenda. S. 291—300.)

Vollblut der meisten Tierarten übt eine mehr oder weniger starke Hemmungswirkung aus auf das Wachstum der Influenzabazillen. Diese Wirkung ist besonders stark bei Hammel-, Rinder- und Schweineblut, sie fehlt bei Taubenblut und meist auch bei Pferdeblut. Sie wird verursacht durch die Stromata, die den V-Faktor inaktivieren, und ist die Folge einer Fermentwirkung (wahrscheinlich oxydativer Art) und nicht einer Adsorption oder einer chemischen Bindung des V-Faktors. Diese Beobachtungen geben die Erklärung für die besondere Eignung des Taubenblutes sowie für die Überlegenheit des Kochblutagars (Zerstörung des inaktivierenden Fermentes) gegenüber dem Vollblutagar bei der Züchtung des Influenzabazillus.

Rodenkirchen (Königsberg Pr.).

Gorbach, G. und Sablatnög, A., Über die Bildung von Lipoiden durch Bakterien. I. Mitt. Die Gesamtfettbildung von Bacillus prodigiosus auf festen Nährmedien. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 5. 1934. S. 311—317.) — II. Mitt. Die Gesamtfettbildung von Bac. prodigiosus in Nährlösungen. (Ebenda. S. 318—327.)

I. Mitt. Das Material, farblos wachsender Stamm von B. prodigiosus, wurde nach Toluolautolyse einer Extraktion nach der vom ersten Verf. ausgearbeiteten Mikromethode unterworfen. Auf festen Nährböden ist das Maximum der Lipoidbildung (1,23%) bei schwach saurer Reaktion (ph 6,6) nach 8 tägiger Zucht erreicht. Im Alter nimmt die Lipoidmenge bei alkalischer und saurer Reaktion ab, bei neutraler bleibt sie annähernd konstant. Durch Einwirkung von Äthylalkoholdämpfen konnte bei alkal. Reaktion und 19 tägiger Einwirkung Steigerung von 100% erzielt werden. Von Glyzerin, Dextrose, Saccharose gibt Glyzerin die höchste Ausbeute. In flüssigen Nährböden wird ein 2—4 mal höherer Lipoidgehalt erreicht als auf festen.

II. Mitt. In flüssigen Nährböden nimmt die Lipoidmenge mit dem Alter ebenfalls ab; das Temperaturoptimum der Lipoidbildung beträgt 12° C. Am günstigsten wirkt schwach saure bis neutrale Anfangsreaktion. Günstige C-Quellen sind Mannit, Glyzerin, Dextrose, Saccharose, Maltose, Brenztraubensäure; wesentlichen Einfluß hat aber die Konzentration, deren Optimum bei ziemlich niedrigen Werten liegt (m/20 für Dextrose). Ammonsalze organischer Säuren fördern die Lipoidbildung besonders (8,1% bei Ammoniumlaktat!); steigende Konzentration der N-Quelle erhöht die Lipoidmenge. Der unverseifbare Anteil im Lipoidextrakt betrug 12,8%.

Rippel (Göttingen).

Cramer, M., Zur Biologie und Einteilung der Streptokokken, mit besonderer Berücksichtigung der Antiviruswirkung. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 131. 1934. S. 308—323.)

Prüfung einer großen Anzahl von Stämmen der Streptokokkengruppe in verschiedenen Bouillonkulturfiltraten und gleichzeitig auf den verschiedensten Nährböden, einerseits zum Studium der antagonistischen Wirkung von Filtraten gegenüber den verschiedenen Streptokokkentypen und andererseits im Hinblick auf deren Spezieseinteilung. Dabei ergab sich, daß Filtrate von Pyocyaneus, Fluoreszens, Proteus, Mycoides, Paratyphus, Coli und Ruhr keinen merklich schädigenden Einfluß hatten auf Enterokokken und Milchstreptokokken, daß sie dagegen Pneumokokken und Mukosusstreptokokken erheblich schädigten. Die Resistenz der übrigen Streptokokken lag zwischen den beiden Extremen, sie nahm ab in der Reihe: Galtstreptokokken, hämolytische Streptokokken, Drusestreptokokken, grünwachsende Mundstreptokokken. Die Wirkung der Filtrate war demgemäß nicht spezifisch elektiv in dem Sinne, daß jeweils bestimmte Typen von den einzelnen Filtraten bevorzugt geschädigt wurden. Als Ursache der Schädigung kann beim größten Teil der Filtrate die Veränderung des ph-Wertes angenommen werden; bei gewissen Filtraten blieb aber trotz Neutralisation die Schädigung bestehen. Erhitzung der Filtrate auf 60° während einer halben Stunde war ohne Einfluß auf ihre schädigende Kraft. Die Stärke dieser Kraft war am größten beim Pyocyaneusfiltrat, es folgten in abnehmender Reihenfolge die Filtrate von Fluoreszens, Proteus, Mycoides, Paratyphus, Coli und Ruhr. Die Filtrate von Staphylokokken und Streptokokken selbst waren so gut wie ohne Wirkung bis auf die deutlich sauer reagierenden, die natürlich den säureempfindlichen grünwachsenden Mundstreptokokken, Pneumokokken und Mukosusstreptokokken nur schlechte Wachstumsmöglichkeit boten. Eine Virulenzbestimmung der Streptokokken durch Filtrate ließ sich also nicht

durchfuhren im Sigwartschen Sinne (Sigwart nimmt an, daß mit Hilfe der Streptokokkeneigenfiltrate eine Trennung in virulente und avirulente Stämme möglich ist). Allein die im allgemeinen avirulente Gruppe der Enterokokken kann wegen ihrer außerordentlich hohen Resistenz gegen alle möglichen Einflüsse von den übrigen Streptokokkenarten abgetrennt werden. — Was die Arteinteilung der Streptokokken betrifft, so zeigten sich bei den Untersuchungen mannigfache Standortsmodifikationen, die als Übergänge zwischen den einzelnen Streptokokkenarten gedeutet werden. Es ist also immer mit gewissen Schwankungen im biologischen Verhalten zu rechnen. — Von den geprüften Nährböden bewährten sich für die praktische und sichere Diagnose der einzelnen Streptokokkentypen von den Blutnährböden insbesondere Hammelblutplatten mit und ohne Traubenzucker, daneben für die grünwachsenden Mundstreptokokken, Pneumokokken und Mukosusstreptokokken die Kochblutplatte nach Bieling und die Hämatinplatte nach Kovács. Für die hämolytischen Streptokokken und Enterokokken sind letztere zwei Nährböden nur zwecks Variationsforschung brauchbar. Weiterhin sollten zur allgemeinen Typentrennung herangezogen werden: Lackmusmilch nach Heim, Äskulinbouillon, Eiweißbouillon nach Levinthal, Prüfung der Hitze- und Galleresistenz.

Rodenkirchen (Königsberg Pr.).

Meyer, R., Beiträge zur Kenntnis der Cellulosezersetzung unter niedriger Sauerstoffspannung. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 5. 1934. S. 185—222.)

In Rohkulturen der Zellulosezersetzung nach Omelianski fand sich ein Aktinomyzeten-ähnlicher Organismus (mit seitlicher Sporenabschnürung), der Zellulose kräftig zersetzt; jedoch sind die bekannten Bakterien nicht auf seine Tätigkeit angewiesen. Auch fand sich ein, für die Zersetzung der Zellulose nicht in Frage kommender, anaerober Azotobacter-ähnlicher Coccus.

Versuche, durch Einzell-Isolierungen zu einer Reinkultur der Omelianski-Bakterien zu gelangen, schlugen fehl; bei mehr als 30 Isolierungen trat keine Entwicklung ein. Die Reinkultur wurde durch Waschen und ¼ stünd. Erhitzen auf 75° C hergestellt. Die Jugendform ist schwer zu finden, lebhaft beweglich, spindelförmig (Amylobacter-ähnlich); später bilden sich die bekannten Stäbchen- und (bei der Sporenbildung) Plectridiumformen. Abweichend finden sich fädige und zitronenförmige Formen.

Wachstum findet auch in Fleischbrühe statt, doch wird die von Bakterien besetzte Zellulose nicht angegriffen. Selbst nach 33 maliger Überimpfung auf Fleischbrühe erfolgt auf Zellulose noch normale Entwicklung. Wachstum findet auch auf Dextrosenährboden statt.

In vielen Fällen wird ein gelber Farbstoff bei der Zersetzung der Zellulose gebildet, der aber bei vielmalig übergeimpften Kulturen nicht mehr auftritt; er sitzt in den äußeren Teilen der Zelle und kann auch auf die Zellulosefaser übergehen. Gegenwart von etwas Sauerstoff ist für seine Bildung notwendig. Er tritt nur auf Zellulose auf, nicht in Fleischbrühe oder Dextrosekulturen. Er ist mit keinem Lösungsmittel zu extrahieren; verdünnte Säuren schlagen ihn in fleischrot um.

Das Innere der Zellen enthält Körnchen, die axial gelagert sind. Verf. glaubt, daß diese mehr der mechanischen Stabilisierung dienen. Jedenfalls liegen die nachweisbaren Reservestoffe (Volutin) peripher, außerhalb der

Achse. Verf. schließt auch aus besonderen Beobachtungen, daß dieser Zellulosezersetzer keine eigentliche feste äußere Zellmembran besitzt. In jüngeren Stäbchen konnte bisweilen Glykogen nachgewiesen werden, in zwei Fällen fanden sich auch mit Jod sich bläuende Inhaltskörper. Es wird die Möglichkeit diskutiert, daß der Organismus sich von der Amylobactergruppe abgespalten hat.

Etwas Sauerstoff ist für den Eintritt der Gärung vorteilhaft, zu deren Beginn er teilweise verschwindet. Methan wurde nicht gefunden, Wasserstoff z. T. nur in geringer Menge, im übrigen Kohlensäure. Die Bildung von Wasserstoff läßt bei hohen Überimpfungen nach; dieses Gas wurde bei einer 93. Überimpfung überhaupt nicht gebildet, trotz kräftiger Zersetzung der Zellulose. Dabei konnten allerdings die geringen Sauerstoffmengen mitgewirkt haben. Überhaupt schwanken die Gasmengen außerordentlich; sie waren bei dem Verf. gering im Vergleich zu den übrigen Autoren.

Rippel (Göttingen).

Issatschenko, B. L. und Wackenhut, A. M., Einige Beobachtungen über den Entwicklungszyklus des cellulosezersetzenden Organismus. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 5. 1934. S. 303—310.)

Die bereits 1932 in russischer Sprache mitgeteilten Untersuchungen werden hier kurz deutsch veröffentlicht, unter Beigabe guter Abbildungen, und es wird der Entwicklungsgang des Hutchinson-Claytonschen aeroben Zellulosezersetzers beschrieben. Aus den „Sporoiden" keimen feine, fädige, anfänglich ringförmig aufgerollte, später sich streckende, aber gewunden bleibende Formen, die an beiden Enden zugespitzt sind. Sie vergrößern und verbreitern sich später, es tritt eine zentrale, stark färbbare Partie auf, schließlich Querteilung und Teilung der „Chromatinsubstanz". Unter Abrundung werden die Zellhälften zu den „Sporoiden".

Der Organismus wurde in der gemäßigten und arktischen russischen Zone (auch in Salzseen und im Wasser des Barentsmeeres) gefunden. Die Verff. wählen als Bezeichnung die von Winogradski gegebene: Cythophaga Hutchinsoni. Rippel (Göttingen).

Wenzl, H., Zur Frage nach der Wachstumsgrenze von Azotobacter chroococcum im alkalischen Bereich. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 5. 1934. S. 358—365.)

Die Wachstumsgrenze von Azotobacter chroococcum im alkalischen Bereich ist bisher noch nicht genau festgelegt worden. In Alkaliböden fand sich das Bakterium bis zu ph 9,5. Versuche wurden bei Na_2CO_3-Zusatz ausgeführt (Phosphate reichen nicht aus, Borate sind zu giftig). Dabei ist indessen das Anfangs-ph nicht maßgebend, da dieses sich durch CO_2-Aufnahme aus der Luft und Bikarbonatbildung nach der sauren Seite verschiebt. Unter Berücksichtigung dieses Umstandes wurde für Rein- und Rohkulturen die Grenze zwischen ph 9,1 und 9,2 gefunden. 0,2% Na_2CO_3 hemmten das Wachstum vollständig. Aus dem erwähnten Vorkommen von Azotobacter in stark alkalischen Böden schließt Verf. (ohne Versuche), daß für Stämme daraus die Grenze um mindestens 0,3—0,4 Einheiten höher liegen müsse. Rippel (Göttingen).

Ruschmann, G. und Meyer, W., Die auf grünen Pflanzen vorkommenden Coli- und coliähnlichen Bakterien und ihre Eigenschaften unter verschiedenen Züchtungsbedingungen. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 5. 1934. S. 366—386.)

Angaben über Bakterien der Coli aerogenes-Gruppe von grünen Pflanzenteilen finden sich bisher nur vereinzelt, sind aber in Hinsicht auf die Schädlichkeit der Gruppe beim Einsäuern auch von praktischem Interesse. Von frischem Pflanzenmaterial (Rasengras, Rieselfeldergras, Mais) und solchem, das einige Tage wie zum Einsäuern aufbewahrt war, in einigen Fällen auch von mit anorganischen Säuren versetztem Material wurden 100 Stämme von Coli und coli ähnlichen Bakterien, darunter 6 typische Coli-Stämme isoliert und auf die verschiedensten Eigenschaften hin untersucht, namentlich auch nach den deutschen und neueren amerikanischen Untersuchungsmethoden. Diese stimmten überein, wenn es sich um die typischen Coli-Formen handelte, sonst nicht.

Atypische Stämme waren nur bis zu 37° C lebensfähig, typische Coli-Stämme bis 41° C, während das zum Vergleich herangezogene, aus Darm isolierte B. coli-Haar noch bei 46° C wuchs, obwohl es jahrelang bei niedrigerer Temperatur gezüchtet wurde.

Bei den 13 aufgefundenen indolbildenden Stämmen blieb diese Fähigkeit auch bei 1jähriger Aufbewahrung in sterilem Leitungswasser erhalten, ebenso wie die sonstigen charakteristischen Eigenschaften, soweit es sich um die typischen Coli-Stämme handelte. Gelbwachsende, gelatineverflüssigende Indolbildner starben darin bald ab. Zimmertemperatur wurde dabei besser vertragen als solche von 30° C.

Bei Züchtung auf zuckerreichem, eiweißarmem Substrat (Bierwürze-Agar + 5% Zucker) gingen die gelbwachsenden Indolbildner nach 13 Überimpfungen ein, während die typischen Coli-Formen ohne Änderung der Eigenschaften lange lebensfähig blieben.

Versuche, durch Erhitzen die von Hüttig behauptete Umwandlung von Coli in Streptococcus lactis durchzuführen, schlugen gänzlich fehl, auch die behaupteten Zwischenformen konnten nicht erhalten werden. In Wasserabschwemmung vertrugen dabei die Bakterien das Erhitzen besser als in Fleischbrühe. Die Hitzeresistenz sinkt mit dem Alter der Zellen. Rippel (Göttingen).

Burgwitz, G. K., Denitrification as the result of the combined activity of bacteria. I. (Bull. of the State Inst. of Agric. Microbiol. USSR. Vol. 5. 1933. p. 52—57.) [Russ. m. engl. Zusfassg.]

Außer der echten, durch eine einzige Bakterienart hervorgerufenen Denitrifikation gibt es noch eine andere, die sich aus der gemeinsamen Wirkung zweier Arten ergibt, ein zweifellos wichtiger mikrobiologischer Vorgang, der aber erst wenig untersucht worden ist. Verf. beschreibt zwei aus turkestanischer Erde isolierte Bakterien, die in Mischkultur denitrifizieren. Bact. turanicum n. sp. reduziert Nitrat zu Nitrit und Bact. nitrosovorum n. sp. reduziert das gebildete Nitrit weiter zu elementarem Stickstoff. Bortels (Berlin-Dahlem).

Korsakova, M. P., and Bylinkina, V. N., Denitrification as the result of the combined activity of bacteria. II. (Bull. of the State Inst. of Agric. Microbiol. USSR. Vol. 5. 1933. p. 58—66.) [Russ. m. engl. Zusfassg.]

Die von Bact. turanicum und Bact. nitrosovorum gemeinsam hervorgerufene Denitrifikation verläuft schematisch in folgen-

der Weise: 2 $KNO_3 \rightarrow$ 2 $KNO_2 \rightarrow$ 2 $KNO \rightarrow N_2$. Die erste Phase dieser Reduktionskette ist die Wirkung des Bact. turanicum, an der zweiten sind beide Arten beteiligt, und die dritte wird nur von Bact. nitrosovorum ausgelöst. Bortels (Berlin-Dahlem).

Hirsch, J., Chemische und physiologische Studien über die Keimvermehrung. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 116. 1934. S. 182—205.)

Die Entwicklung einer Bakterienkultur — die Untersuchungen wurden an Diphtheriebazillen vorgenommen — verläuft diskontinuierlich mit wechselnden Perioden intensiverer und geringerer Keimvermehrung. Auf diese Weise entstehen eine Reihe von Vermehrungszyklen, deren einzelne Dauer sich über viele Stunden bis Tage erstreckt. Die Phasen des gesteigerten Keimzuwachses sind chemisch durch einen hohen absoluten Phosphorgehalt der Zellen und durch ein niedriges Zellentrockengewicht charakterisiert, während die Phasen des geringeren Keimzuwachses umgekehrt einen verminderten Phosphorgehalt und — durch Einlagerung stickstoffarmen oder stickstofffreien Materials — ein höheres Trockengewicht der Keime aufweisen. Rodenkirchen (Königsberg Pr.).

Ehrismann, O., Pyocyanin und Bakterienatmung. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 116. 1934. S. 209—224.)

Pyocyanin, der blaue Farbstoff der Pyocyaneusbakterien, regt die Atmung lebender Bakterien in geringem Maße an. Seine desinfizierende Wirkung konnte bestätigt werden, sie ist jedoch oft nur gering und gegenüber verschiedenen Bakterienarten sehr verschieden stark ausgeprägt. Über die oxydativen Leistungen durch Zusatz von Pyocyanin muß im Original nachgelesen werden. Rodenkirchen (Königsberg Pr.).

Etinger-Tulczynska, R., Superinfektionen mit Bac. Friedländer. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 116. 1934. S. 72—80.)

Infektionen mit Bac. Friedländer verliefen bei Mäusen, die mit dem gleichen Stamm oder einem anderen Typ vorinfiziert waren, bedeutend schwächer als bei den Kontrollen. Diese Hemmung der Superinfektion wird im wesentlichen auf das „Antagonismusphänomen“ zurückgeführt, das auch in vitro beobachtet wird. Danach werden die Erreger der zweiten Infektion durch die in Überzahl vorhandenen Erreger der ersten Infektion gehemmt. Bei Meerschweinchen wirkte die Vorinfektion mit Bac. Friedländer (die bei dieser Tierart nicht zu einer Generalisation wie bei der Maus führt) nicht abschwächend auf die Superinfektion. Rodenkirchen (Königsberg Pr.).

Olenow, I., Über den Einfluß der Radiumemanation auf Zygosaccharomyces mandschuricus Saito. (Ann. de Roentg. et de Radiol. T. 13. Nr. 1—2. 1934. p. 93—97.) [Russisch.]

Bei Aussaat nach 24 Std. aus einem Glase mit Bierwürze, in welcher eine Kapillare mit Radiumemanation zerdrückt worden war, ergab Zygosaccharom. mandschuricus Kolonien, in denen die kopulierenden Zellen 1—3 lange Fortsätze bildeten. Der Kopulationskanal bildet sich infolge der Vereinigung der Fortsätze zweier Zellen und ist in diesem Fall länger als gewöhnlich. Durch wiederholte Bestrahlung wurde eine Rasse mit Zellen von amöbenartiger Form erhalten, die selten kopulierten und Asci von unregelmäßiger Gestalt bildeten, ferner faltige Kolonien mit größeren,

reichlich Fett enthaltenden Zellen, die keine Fähigkeit zu Kopulation und Sporenbildung besaßen. Die faltige Rasse vergärt Glukose, Lävulose und Saccharose stärker als die Ausgangsrasse und hat zudem die Fähigkeit erworben, Galaktose und Maltose zu vergären, die dem Ausgangsstamm fehlt.

A Imšenecki (Leningrad).

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Schwartz, W. und Kaeß, G., Das Wachstum von Schimmelpilzen auf gekühltem Fleisch bei verschiedenen Luftzuständen. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 5. 1934. S. 157—184.)

Unter 20 aus Kühlhäusern isolierten Pilzen herrschten Mucor und Penicillium vor, Aspergillus trat nur einmal auf, vereinzelt wurden rote Hefen gefunden. Besonders häufig waren die beiden folgenden zu den nacherwähnten Versuchen benutzten Arten: Penicillium flavoglaucum Biourge Nr. 73 und eine niedrige Form von Mucor racemosus Rabenh., ferner wurden herangezogen ein Schwärzepilz, Cladosporium herbarum Link, und ein von Dörrfleisch isoliertes Acaulium, Penicillium (Scopulariopsis) rufulus Bainier.

Die Versuche wurden so ausgeführt, daß kleine Fleischstückchen bei wechselnder Temperatur und Luftfeuchtigkeit nach Beimpfung mit den Pilzkulturen gehalten wurden. Doch geben die Versuche genügend Hinweise auf die Verhältnisse im praktischen Großbetrieb.

Für Flächenwachstum, Konidien- und Sporenzahl liegt das Optimum bei etwa 95% Luftfeuchtigkeit. Die schlechtere Wirkung höherer Feuchtigkeit kann durch Transpirationsschwierigkeiten und die nicht ganz zu unterdrückende Bakterienentwicklung verursacht sein. Im einzelnen ist die Wirkung von Temperatur und Feuchtigkeit auf die Pilze verschieden. Am schnellsten keimt und wächst Mucor. Da überhaupt Mucorineen in erster Linie als Infektion in Frage kommen, so bestimmen sie die Begrenzung der Lagerzeit. Alle diese Versuche setzen allerdings voraus, daß eine Pilzinfektion eine Bakterieninfektion überwiegt.

Bei Senkung der Temperatur um 3° C kann die relative Feuchtigkeit um 5—20% heraufgesetzt werden zur Erreichung gleichen Flächenwachstums beim Pilz und gleicher Lagerzeit beim Fleisch. Grundsätzlich würde zwar allein durch entsprechende Senkung der Luftfeuchtigkeit eine Unterdrückung des Pilzwachstums möglich sein, wie Keimungsversuche im hängenden Tropfen zeigten, aber dabei würde die ursprüngliche Beschaffenheit des Fleisches zu stark verändert werden (Gewichtsverlust, Verfärbung usw.).

Rippel (Göttingen).

Kaeß, G., und Schwartz, W., Untersuchungen über den Einfluß der Luftbewegung auf das Wachstum von Schimmelpilzen auf gekühltem Fleisch. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 5. 1934. S. 443—450.)

Zu den Versuchen wurden die beiden auf gekühltem Fleisch vorkommenden Schimmelpilze Penicillium flavoglaucum und Mucor racemosus benutzt. Bei einer Luftbewegung von 5 und 12 cm/sec und 90% Luftfeuchtigkeit ist das Wachstum der Pilze gegenüber ruhender Luft verzögert, und zwar um so mehr, je höher die Geschwindigkeit der Luft-

bewegung ist. Die Hemmung ist stärker, wenn die Luft senkrecht zur Infektionsfläche strömt als wenn sie parallel dazu streicht. Die Ursache der Hemmung ist Zunahme des Quellungs- und osmotischen Drucks auf der Fleischoberfläche infolge Vergrößerung der Verdunstung.

Praktisch ist die Wachstumshemmung zu gering als daß die Lagerzeit nennenswert verlängert werden könnte. Luftumwälzung im Kühlraum wirkt also durch schnelleren Ausgleich örtlicher Temperatur- und Feuchtigkeitsunterschiede, nicht durch direkte Einwirkung auf den Pilz. Die Luftbewegung im Kühlraum braucht also nur so groß zu sein, als sie diesen Ausgleich aufrechterhalten kann. Rippel (Göttingen).

Brekenfeld, Ergebnisse der Bakterioskopie von Fleischwaren. (Ztschr. f. Unters. d. Lebensmittel. Bd. 67. 1934. S. 577, 14 Abb.)

Es wurde durch Stichproben bei 48 verschiedenen Schlächtereien Ostpreußens festgestellt, daß die bakterielle Durchsetzung der Fleischwaren im allgemeinen um so größer ist, je schlechter die hygienischen Verhältnisse im Schlächtereibetriebe sind. Verf. fordert daher aus Gründen der Volksgesundheit sowie der Kontrolle der Betriebe die Festsetzung eines Grenzwertes für den Keimgehalt für Hackfleisch. Die Erfahrung zeigte, daß der 10 μ dicke Schnitt bei 800facher Vergrößerung unter dem Mikroskop nicht mehr als 10 durch Methylenblau gefärbte Bakterien im Gesichtsfeld zeigen darf, soll das Fleisch noch als einwandfrei bezeichnet werden. Es sind von mindestens 3 verschiedenen Stellen des Fleisches Proben zu nehmen und von jeder Probe mehrere Schnitte herzustellen. Die bakterioskopische Methode erfordert zur Durchführung nur 15 Min., ist nach Ansicht des Verf.s sicherer als die Kulturmethode und gibt dort noch Auskunft, wo die chemische Analyse versagt. Sie sei daher bei den Nahrungsmittel-Untersuchungsämtern einzuführen, evtl. seien dort besondere Stellen für Fachbakteriologen zu schaffen. Engel (Berlin).

Mc Crady, M. H., and Archambault, J., Examining dairy products for members of the Escherichia-Aerobacter group. (Journ. of Public Health. Vol. 24. 1934. p. 122—128.)

Da die Zahl der in Milch (besonders in pasteurisierter) vorhandenen Coli-aerogenes-Vertreter vielfach sehr niedrig ist (10—20 pro 100 ccm), ergeben sich Schwierigkeiten für die übliche Methode, $^1/_{10}$ oder $^1/_{100}$ ccm der betreffenden Probe auf Agarplatten zu verarbeiten. Hierbei erhaltene negative Resultate täuschen eine Sicherheit vor, die in Wirklichkeit nicht vorhanden ist. Infolgedessen kommt für solche Fälle nur die Anwendung flüssiger Nährböden in der Gasprobe in Frage. Eine andere Frage ist die nach den quantitativen Unterschieden der verschiedenen Methoden sowie nach deren Genauigkeit. Bezüglich der letzten hat die Plattenmethode den Vorzug, vorausgesetzt, 1. daß auf der Platte mehr als 5 Coli-aerogenes-Kolonien erscheinen, 2. daß diese zuverlässig als solche zu erkennen sind. Andererseits ist die Gärprobenmethode nur dann einigermaßen zuverlässig, wenn von jeder Verdünnung 5 Parallelröhren hergestellt werden. — Die Elektivität der bei der Plattenmethode verwendeten Nährböden läßt viel zu wünschen übrig. Es stellte sich z. B. bei Verwendung von Gallensalznährböden, Endoagar und Eosin-Methylenblau-Agar heraus, daß von den augenscheinlich typischen Kolonien nach genauer Prüfung in Wirklichkeit

nur 33% als wirkliche Coli-aerogenes-Organismen bestätigt werden konnten. — Für den Gasbildungsnachweis ist gewöhnliche Laktosebouillon völlig ungeeignet. Tritt in den Gärröhrchen mit Brillantgrün-Laktose-Gallewasser eine 10% übersteigende Gasmenge auf, dann kann man bei pasteurisierter Milch mit 89%, bei roher Milch mit 99% Sicherheit auf Vorhandensein echter Coli-aerogenes-Stämme rechnen, bei geringeren Gasmengen sind die entsprechenden Zahlen 45 bzw. 92%.

K. J. Demeter (Weihenstephan-München).

Rautenstein, I. und Scharow, I., Mikrobiologische Untersuchung von konservierten Früchten türkischer Bohnen. (Konservenindustrie. Nr. 1. 1934. S. 14—19.) [Russisch.]

Beim Aufbewahren von rohen Früchten findet starke Vermehrung der Mikroorganismen statt, deren Zahl nach 6 Std. 44 000, nach 72 Std. 120 000 auf 1 g beträgt. Auf den rohen Früchten wurden am häufigsten gefunden B. herbicola, B. fluorescens, B. subtilis, B. mesentericus, B. pudidum und Bakterien der Coligruppe, ferner Milchsäurebakterien, die während des ganzen technologischen Prozesses vorhanden sind. Aus aufgeblähten Konservenbüchsen wurden folgende Milchsäurebakterien isoliert: B. Aderholdi, B. cucumeris fermentati, B. acidi lactici, Lactobac. plantarum, ferner B. coli, B. subtilis und B. mesentericus. Wie Infizierung mit Reinkulturen zeigte, entsteht das Aufblähen der Konservenbüchsen vornehmlich durch die Milchsäurebakterien, seltener durch Bakterien der Coli-Gruppe. B. mesentericus und B. subtilis verursachten kein Aufblähen. Die Untersuchung der isolierten Kulturen auf ihre Widerstandsfähigkeit gegen Erhitzung zeigte, daß sporentragende Aeroben in Konservenbüchsen Erhitzung bis 120° im Verlauf von 18 Min. ertragen. Milchsäurebakterien wurden bei Erhitzung bis 116° während 18 Min. in 2 Fällen von 16 nicht getötet. A. Imšenecki (Leningrad).

Issatschenko, B., Ontschukowa, M., Predtetschenskaja, A. und Lipskaja, T., Über Selbsterhitzung des Kornes. Compt. Rend. Acad. Sc. U.R.S.S. T. 1. 1934. p. 507—509.) [Russisch.]

Im Korn wurden während der Selbsterhitzung in 1 g Gerste 13 915 000, in 1 g Roggen 2 613 000 Mikroorganismen gefunden. Die Zahl der thermophilen Bakterien steigt während der Erhitzung und kann 4 000 000 auf 1 g erreichen. Versuche mit sterilisiertem und desinfiziertem Korn, bei einem Feuchtigkeitsgehalt von 23,39% zeigten, daß bei der Entwicklung von Actinomyces im Korn die Temperatur des letzteren im Verlauf von 20—30 Tagen 41,5° erreichen kann. Ähnliche Versuche mit Aspergillus ergaben Temperaturerhöhung bis 53,5°. Bei einem Feuchtigkeitsgehalt des Roggens von 16,85% stieg die Temperatur des Kornes im Verlauf von 65 Tagen nicht über 21,5°. Sterilisierte Samen verschiedener Pflanzen wurden mit Schimmelpilzen und thermophilen sporenbildenden Bakterien infiziert, wobei Temperaturerhöhung bis 58° erfolgte. Unter dem Einfluß von Mikroorganismen verwandelt sich das Korn in eine schwarze Masse, der Kohlenhydratgehalt und die Aktivität der Amylase nehmen ab. Mit Temperaturerhöhung des Kornes verbundene physiologische Prozesse in den Körnern selbst fördern die Entwicklung der Mikroorganismen, die bei der Selbsterhitzung des Kornes die Hauptrolle spielen.

A. Imšenecki (Leningrad).

Mikrobiologie des Düngers, Bodens, Wassers und Abwassers.

Koffman, M., Die Mikrofauna des Bodens, ihr Verhältnis zu anderen Mikroorganismen und ihre Rolle bei den mikrobiologischen Vorgängen im Boden. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 5. 1934. S. 246—302.)

Nach einem sehr erwünschten Literaturüberblick über die Protozoenforschung in den einzelnen Ländern (425 Literaturnummern!) prüft Verf. die bekannte Russellsche Theorie. Bodenproben von verschiedener Vorbehandlung (Änderung der H-Ionenkonzentration, N-Zusatz) wurden partiell durch Toluol oder Wärme sterilisiert und teils mit, teils ohne Zusatz von Protozoen auf Ammoniak- und Nitratbildung untersucht; auch direkte mikroskopische Untersuchungen wurden dabei durchgeführt. Jedenfalls zeigte sich, daß Gegenwart von Protozoen eher günstig als hemmend wirkte, was jener Theorie widerspricht.

Direkte mikroskopische Beobachtungen an Bodenaufschlämmungen zeigten das Vorhandensein aktiver Protozoen; es herrschen Flagellaten vor, während Rhizopoden und besonders Ziliaten stark zurücktreten. Auffallend ist ihre z. T. äußerst geringe Größe (Azotobacter-Größe!), wie namentlich beim Vergleich mit fast gleichen aquatischen Formen festzustellen ist. Eine reine Linie von Colpoda, in sterilen, mit B. subtilis versetzten Boden geimpfte, veränderte sich bei Anpassung an die terrestrische Lebensweise in Größenreduktion, Veränderung von Kern und Nahrungsvakuolen, so daß sie kaum wiederzuerkennen war. Die Veränderungen waren um so stärker, je trockener der Boden war. Jedenfalls können danach die Protozoen im Boden als Bakterienfresser sicherlich keine so große Rolle spielen wie im Wasser.

Im Höchstfalle konnten bis 50 000 Protozoen je 1 g Boden festgestellt werden, noch mehr Cysten, z. B. 26 000 große und 63 000 kleine Cysten. Die Cysten widerstehen teilweise der partiellen Sterilisation durch antiseptische Mittel. Im gleichen Boden stellte Verf. durch unmittelbare mikroskopische Untersuchung fest (je 1 g Boden): 290 000 Algenzellfragmente, 1 000 000 Algencysten, 540 000 Pilzfragmente, 3 780 000 Pilzsporen, 1 200 000 Aktinomyzetenzellen, an Kokken 994 Millionen unter 0,5 μ, 175 Millionen von 0,5—1,0 μ, 92 Millionen von 1,0—1,5 μ, 20 Millionen über 1,5 μ, ferner 27 Millionen Stäbchen, davon 3 Millionen über 1 μ dick. Der Vergleich zeigt, daß die Protozoen den Bakterien und anderen Mikroorganismen gegenüber an Masse so zurücktreten, daß sie unter normalen Verhältnissen keine große Bedeutung für den Stoffumsatz im Boden haben können.

Weiterhin finden sich eingehende Angaben über die Züchtung und den Entwicklungsverlauf einer ganzen Reihe von Protozoen (reine Linien, z. T. auch Reinkulturen) auf flüssigen, halbflüssigen und festen Substraten; es sei hier auf das Original verwiesen. Rippel (Göttingen).

Fehér, D., Untersuchungen über die Schwankungen der Bodenatmung. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 5. 1934. S. 421—435.)

Verf. verfolgte die Bodenatmung von zwei ungarischen Waldböden und einem Freilandboden längere Zeit im Zusammenhang mit einigen anderen Faktoren. Sie geht völlig dem Bakteriengehalt und seinen Schwankungen parallel und ist wie dieser in erster Linie durch das Zusammenwirken von Temperatur und Feuchtigkeit bedingt. Es tritt ein sommerliches Maximum auf. Die Jahresperiode der CO_2-Entwicklung zeigt den gleichen Verlauf

wie die Robertsonsche Wachstumskurve. Beim Maximum des Bakteriengehalts und der Bodenatmung sinkt der Humusgehalt.

Der Freilandboden (Brache mit Pflanzenwuchs) zeigt genau dieselben Verhältnisse. Verf. glaubt, daß die auf landwirtschaftlich genutzten Flächen beobachtete Sommerdepression ein den natürlichen Böden fehlender, durch künstlichen Eingriff erzielter Kunsteffekt sei; bei den natürlichen Böden schützt die Pflanzendecke die obersten Schichten vor übermäßiger Austrocknung. Rippel (Göttingen).

VI. Internationaler Botanischer Kongreß.

Amsterdam, 2.—7. September 1935.

Der Vorbereitungsausschuß des Sechsten Internationalen Botanischen Kongresses gibt eine Reihe von Themen bekannt, die vorläufig zur Diskussion gewählt worden sind, und zwar in den Sektionssitzungen:

AGR. Agronomie. 1. Gegenseitige Wirkungen von Wurzeln und Boden. Gegenseitige Wirkungen der Pflanzen. 2. Viruskrankheiten. 3 a) Die Unkrautflora als Indikator für Bodenverhältnisse. 3 b) Grasland-Assoziationen. 4 a) Genetik und Züchtung resistenter Rassen. 4 b) Inzucht. 5. Die Bedeutung mikrobiologischer Untersuchungen für landwirtschaftliche Probleme. 6. Die Beeinflussung des Entwicklungszyklus bei Pflanzen.

CYT. Zytologie. 1. Struktur der Chromosomen. 2 a) Überkreuzung versus Konversion. 2 b) Terminologie der Zytologie und der Genetik. 3 a) Die Paarung der Chromosomen bei Polyploiden. 3 b) Die Reduktionsteilung der Pilze. 4. Ketten- und Ringbildung der Chromosomen. 5 a) Die submikroskopische Struktur der Zellwand. 5 b) Vakuom, Chondriom, Plastiden. 6. Die Kolloidchemie des Protoplasmas; vitale Färbung.

GEN. Genetik. 1 a) Experimentelle Mutationen. 1 b) Die genetischen Grundlagen der Größe und der Form. 2 a) Überkreuzung versus Konversion. 2 b) Terminologie der Zytologie und der Genetik. 3 a) Sexualität bei Pilzen. 3 b) Reduktionsteilung der Pilze. 4 a) Genetik und Züchtung resistenter Rassen. 4 b) Inzucht. 5. Systematik und Genetik. 6a) Plasma und Genotypus in ihren gegenseitigen Beziehungen. 6 b) Letalfaktoren.

MYC. Mykologie und Bakteriologie. 1. Differenzierungsmerkmale der Hymenomyzeten. 2. Nomenklatur der Pilze. 3 a) Sexualität bei Pilzen. 3 b) Reduktionsteilung der Pilze. 4. Biologische Rassen der Pilze. 5. Die Bedeutung mikrobiologischer Untersuchungen für landwirtschaftliche Probleme. 6. Phylogenie und Systematik der Phykomyzeten.

PATH. Phytopathologie. 1. Die biologischen Grundlagen der Pflanzenquarantäne. 2. Viruskrankheiten. 3. Einzelvorträge. 4. Biologische Rassen der Pilze. 5. Immunisierungsfragen. 6. Physiologische Krankheiten.

PH. Pflanzenphysiologie. 1. Photosynthese. 2 a) Phytohormone; allgemeiner Vortrag. 2 b) Phytohormone; Einzelvorträge. 3. Oxydations- und Reduktionsprozesse und Stoffwechsel. 4. Permeabilität und Salzaufnahme. 5. Transport plastischer Stoffe. 6. Die Beeinflussung des Entwicklungszyklus bei Pflanzen.

SYS. Systematik und Nomenklatur. 1. Einzelvorträge. 2. Caytoniales und Pteridospermae und die Evolution der Angiospermen. 3. Blütenmorphologie. 4. Die weibliche Fruktifikation und die Phylogenie der Koniferen. 5. Systematik und Genetik. 6. Phylogenie und Systematik der Phykomyzeten.

Abgeschlossen am 8. November 1934.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 91. No. 8|10.
Ausgegeben am 29. Dezember 1934.

Über die Rolle von Fe·· und Fe··· in den Gärungs- und Oxydationsprozessen der Hefe.

[Aus dem wissenschaftlichen Forschungslaboratorium der I. Staats-Hefenfabrik in Moskau.]

Von **A. Malkow**.

Hinsichtlich der Rolle des Eisens im Prozeß der alkoholischen Gärung ist[1]) festgestellt worden, daß mit der Erhöhung des Eisengehaltes in der Nährflüssigkeit die Menge des sich bildenden Alkohols sinkt.

In der vorliegenden Arbeit interessierte uns die Frage über die Rolle der Oxydul- und Oxydform des Eisens in den Gärungs- und Oxydationsprozessen.

Methodik.

Die Versuchsgärungen wurden mit synthetischen Nährflüssigkeiten von folgender Zusammensetzung durchgeführt: 50 g Glykose, 5,0 g Pepton, 2,5 g $MgSO_4$, 250 ccm destilliertes Wasser. Die erhaltene Flüssigkeit wurde mit 25 ccm 0,66 m Na_2HPO_4 und 25 ccm 0,66 m KH_2PO_4 vermischt. Nach Zufügung von 13 mg Fe·· oder Fe··· in Gestalt von $FeSO_4$ oder $Fe_2(SO_4)_3$ wurde die Nährflüssigkeit mittels destillierten Wassers bis auf 650 ccm gebracht.

Die Eisensalze waren vor der Einführung in die Nährflüssigkeit mit NaOH-Lösung in Anwesenheit von Seignettesalzlösung bis zur neutralen Reaktion neutralisiert. Zu jedem Versuch wurden je 500 ccm Flüssigkeit genommen.

Im Laufe der Arbeit wurde bestimmt:

1. Eisen nach der Methode von[2]) A. Malkow.
2. Zucker nach der Methode von Bertrand.
3. Alkohol gravimetrisch.
4. Die Hefemenge durch Filtrieren eines bestimmten Volumen der vergorenen Flüssigkeit durch gewogene Filter und Trocknen derselben mit der Hefe bis zur Gewichtskonstanz.
5. Die Triebkraft der Hefe nach der Methode des Deutschen Syndikats der Hefefabrikation.

Bei der Berechnung des Oxydations- und ökonomischen Quotienten der Versuchsgärungen bedienten wir uns der früher von[3]) uns abgeleiteten Gleichungen.

---

[1]) Malkov, A., Ukrainsky. Chemitschny Journal. 7., wiss. Teil. 75. 1932; Chem. Zentralbl. II. 1612. 1933.

[2]) Malkow, A., Journ. of the Chem. Ind. 8. No. 1. 70. 1931. [Russisch.]; Chem. Zentralbl. 2. 280. 1931.

[3]) Malkow, A., Bioch. Zeitschr. 262. 185. 1933.

Experimenteller Teil.

I. Der Einfluß von Fe¨ und Fe¨˙ auf den Gärungs- und Oxydationsprozeß.

Versuch 1.

Zur Nährflüssigkeit sind 10 g Hefe erster Generation hinzugefügt. Die Gärung erfolgte unter Durchlüftung der Flüssigkeit im Laufe von 1½ Std. bei + 30° C.

Tabelle 1. Auf 100 ccm berechnet.

Nr.	P_H	Vergorene Glykose in g	Erhaltene Hefe in mg auf Trockensubstanz berechnet	Triebkraft der entstandenen Hefe in Min.	Fe in mg
1	6,12	1,143	345	59	Fe¨ — 2,22
2	6,12	1,410	475	62	Fe¨˙— 2,22

Die Ergebnisse des ersten Versuchs zeigten den günstigen Einfluß des Eisenoxyds auf die Gärung und Vermehrung der Hefe, während die Gärung in Anwesenheit des Eisenoxydulsalzes bei sonst gleichen Bedingungen schlechtere Resultate ergab.

Versuch 2.

Die Bedingungen sind dieselben wie beim Versuch 1. Die Gärung dauerte 3½ Std.

Tabelle 2. Auf 100 ccm berechnet.

Nr.	P_H	Fe in mg	Vergorene Glykose in g	Erhaltene Hefe in mg auf Trockensubstanz berechnet	Erhaltener Alkohol in %	Triebkraft der entstandenen Hefe in Min.	Oxydations-Quotient	Ökonomischer Quotient
1	6,10	Fe¨ —2,22	3,56	487	1,25	54	0,177	43,48
2	6,15	Fe¨˙— 2,22	3,68	487	1,00	63	0,340	28,15

Der zweite, unter gleichen Bedingungen ausgeführte Versuch zeigte, daß die Gärung in Anwesenheit von Fe¨˙ mit einem höheren Oxydationsquotienten erfolgte als die Gärung mit Fe¨. Was den ökonomischen Quotienten anbetrifft, so bewegte sich derselbe, wie zu erwarten war, in umgekehrt proportionaler Abhängigkeit vom Oxydationsquotienten.

Versuch 3.

Die chemische Zusammensetzung der Nährflüssigkeit ist die gleiche wie in den vorhergehenden Versuchen. Die Gärung erfolgte ohne Durchleiten von Luft im Laufe von 3 Std. Als Aussaatmaterial wurde Hefe dritter Generation genommen.

Tabelle 3. Auf 100 ccm berechnet.

Nr.	Fe in mg	Vergorene Glykose in g	Erhaltene Hefe in mg auf Trockensubstanz berechnet	Erhaltener Alkohol in %	Oxydationsquotient	Ökonomischer Quotient
1	Fe¨ — 2,0	3,35	234,7	1,00	0,320	17,91
2	Fe˙ — 2,0	3,35	273,9	0,68	0,503	13,97

Die Daten des Versuchs bestätigen die vorhergehenden Beobachtungen. Somit führte Fe˙˙˙ auch unter den Bedingungen der Gärung ohne besondere Durchlüftung zu einer geringeren Alkoholbildung und größeren Hefebildung als der Versuch mit Fe¨. Gleichzeitig ergab die Gärung mit Fe˙˙˙ einen höheren Oxydationsquotienten und einen niedrigeren ökonomischen Quotienten als die Gärung mit Fe¨.

Zusammenfassung.

1. Der Zusatz gleicher Mengen von Fe¨ oder Fe˙˙˙ zu der Nährlösung führt

a) zu einer Verringerung der Menge des während der Gärung gebildeten Alkohols im Falle von Fe˙˙˙ im Vergleich mit Fe¨;

b) zu einer absoluten Erhöhung der Menge der während der Gärung gebildeten Hefe im Falle von Fe˙˙˙ im Vergleich mit Fe¨.

2. Die Gärung in Anwesenheit von Fe˙˙˙ ist, unabhängig davon, ob die gärende Flüssigkeit durchlüftet wird oder nicht, mit einem höheren Oxydationsquotienten und einem niedrigeren ökonomischen Quotienten verknüpft als die Gärung mit Fe¨.

3. Die nach der Gärung mit Fe˙˙˙ erhaltene Hefe besitzt eine geringere Triebkraft als die mit Fe¨ gegorene Hefe.

Notes on Fusaria of the Section Martiella.

By William C. Snyder.

National Research Fellow in the Biological Sciences for the year ending Dec. 1, 1934. Now Junior Pathologist, Division of Plant Pathology, University of California, Berkeley, California, U. S. A.

With 5 Figures in the Text.

Recently occasion was had to study taxonomically certain members in the Section Martiella of the genus Fusarium Link. Although the primary interest lay in the parasites of pea and of bean belonging to this section, attention also was given to related or similar fungi in order to draw comparisons between them and the pathogens. Some of the fungi were isolated from diseased plants and tested for pathogenicity at the University of Wisconsin and later to the University of California. Others were received from various sources in culture, and a few were isolated in Europe. It is the purpose of this paper to record additional information upon the taxonomy of these Fusaria and to report observations useful in arriving at their determination.

Changes in nomenclature have been made in those cases where it has been necessary in order to conform with the revised and simplified taxonomic scheme for the Section Martiella, as previously outlined (19), and which will appear in the second part of the Fusarium-Monographie of Wollenweber.

The parasitic Fusaria of Section Martiella are of special interest owing to the fact that the number of active pathogens upon otherwise healthy growing plants is somewhat limited in this Fusarium group. Some recognized species of Section Martiella, namely F. solani (Mart.) App. et Wr. and F. javanicum Koord., are sometimes associated with decaying plant parts. The former is known more or less throughout the world and is often found as a common soil organism; the latter apparently occurs more frequently in warm countries including the tropics. F. alluviale Wr. et Rg. might also be limited in its distribution. F. coeruleum (Lib.) Sacc. is an active wound parasite (18) of the potato tuber. But with this exception, and relatively few others, these Fusaria are generally found in plant tissues that have been weakened through age or some agency, organismal or environmental, unfavorable to the best development of the plant. This is in contrast to the virulent pathogenesis of certain Elegans Fusaria wich may kill the host plant rapidly even when the latter is placed under highly favorable conditions for active growth (10). No attempt will be made to review here the abundant literature dealing with Fusaria of the Section Martiella as associated with plant disease, since a recent summary has been made by Wollenweber (20), but only to emphasize that the Section contains cosmopolitan soil fungi, in the tropics (12) as well as in temperat regions, which may be expected on plant parts under circumstances favorable to decay. Indeed. F. solani is frequently isolated from plants diseased primarily as a result of invasion by wilt fungi of Section Elegans, as is attested by the fact that many cultures received for diagnosis have been found, upon making single-spore cultures, to contain a mixture of a parasite belonging to Section Elegans, and F. solani.

The fungi of Section Martiella dealt with primarily in this paper are of particular interest because of their parasitism for peas, beans, and potato, respectively. It is meant to be noted however, that even these parasitic Martiella Fusaria may not exhibit the virulence and specificity that many of the Elegans Fusaria possess.

Aknowledgements.

The writer wishes to express his grateful appreciation to the National Research Council of America for the opportunity of undertaking the study which is recorded here in part; to Director Dr. Riehm of the Biologische Reichsanstalt, Berlin-Dahlem, Germany, for his generous disposal of the facilities of the institute to the interests of the study; and to Dr. H. W. Wollenweber, under whose guidance the study was made, for the valuable suggestions frequently given during the course of the work and in the preparations of the manuscript. The writer is indebted to Dr. H. N. Hansen, Division of Plant Pathology, University of California, under whose direction several hundred single-spore isolations were made in a check upon the purity and constancy of type of all American Fusaria employed in the present work; to Dr. Otto A. Reinking, and Dr. H. Richter, who read the manuscript; and to Dr. R. W. Goss, Department of Plant Pathology, University of Nebraska, and Dr. Joha. Westerdijk, Baarn, Holland, for Fusarium cultures. The writer is also pleased to express his gratitude to Dr. J. C. Walker, Department of Plant Pathology, University of Wisconsin, whose interest in the study has been continually a source of encouragement.

Pea Root Rot.

Fusarium root rot of pea, Pisum sativum L., caused by F. solani (Mart.) App. et Wr. v. Martii (App. et Wr.) Wr. f. 2, n. c.; syn. F. Martii App. et Wr. v. pisi F. R. Jones.

During the course of investigations on pea wilt (14, 16), carried on under the direction of J. C. Walker at the University of Wisconsin, 1929—1932, the junior author frequently had the opportunity to isolate Fusaria associated with a cortical decay of the lower stem and root of diseased peas. A number of the isolants, derived from plants sent in for disease diagnosis by pea growers in various sections of the United States, were tested for pathogenicity and in most cases were found to produce a root rot similar to that described by F. R. Jones (9) for F. Martii v. pisi. In certain cases however, disease symptoms were obtained which did not seem typical of Jones root rot, and the isolants, dealt with in the following discussion on taxonomy, appeared to differ culturally from F. Martii v. pisi. The following year in connection with pea disease studies in the Division of Plant Pathology at the University of California, pathogenicity tests were repeated using type strains in comparison with a California isolation of the root rot fungus. These pathogenic single-spore cultures of pea root rot Fusaria constituted the basis of the present taxonomic studies made at the Biologische Reichsanstalt, Berlin-Dahlem, Germany.

Pathology.

Root rot of pea has been characterized by Jones (9) as a cortical decay of the underground portion of the plant, usually beginning at the base of the stem, a region found most susceptible to invasion. The cortical decay sometimes involves the entire underground part of the plant (Fig. 1), and is reddish brown to very dark brown in color. Disintegration of the tissue following an attack of the fungus may sever the stem from the root, causing the death of the plant, although under certain conditions new

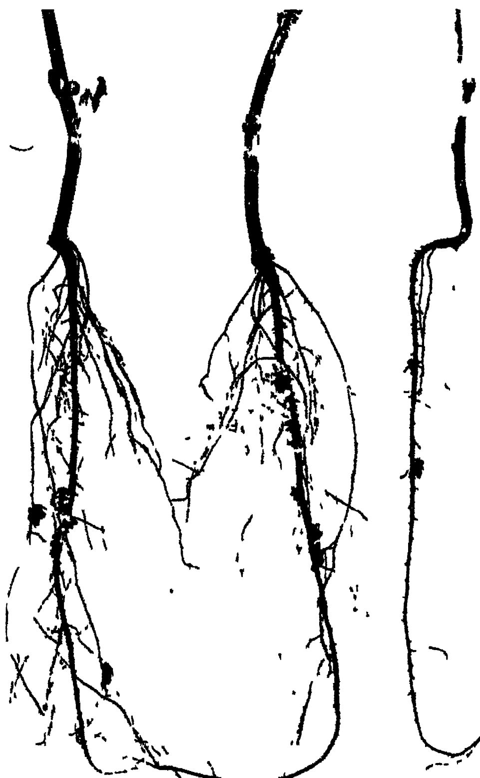


Fig. 1. Plants of the pea variety "Bruce", 5 weeks after planting in soil inoculated with strain No. 140 from Indiana of F. solani v. Martii f. 2. The lesions are very dark brown to almost black and involve the cortex of the entire underground portion of the plant. The test and photograph were made in the Department of Plant Pathology, University of Wisconsin.

white roots sometimes emerge from the lesion and carry the plant to maturity. When the decay reaches the vascular system the fungus has been observed to grow upward in the xylem, beyond the zone of external symptoms, producing a bright red or reddish brown color in the vascular elements. This vascular discoloration has led to its confusion (16) with that of the wilt disease, caused by F. orthoceras App. et Wr. v. pisi Linford. However, the disease is essentially a cortical rot, producing vascular discoloration only late in the development of the disease as a secondary symptom.

Host plants found susceptible to infection have been listed by Jones as Pisum sativum L. var. arvense, P. sativum var. saccharatum, P. sativum var. umbellatum, P. elatius Bieb. and P. jomardi Schrank. Lathyrus odoratus was only slightly infected.

Although the pathogen appears to occur in most of the older pea growing regions of the United States and has been isolated by the writer from diseased plants from the major pea growing areas from California to Maryland, the economic importance of the disease is apparently confined to regions having a high average soil temperature during the growing season. Jones (9) reports that the optimum temperature range for the development of the disease extends from 24° to 33° C. This agrees closely with the optimum temperature for mycelial growth of 20° to 34° C. The optimum for the disease is seen to be above the optimum soil temperature for growth of the pea plant, which Linford (10) found to be from 18° to 24° C.

It is possible that the disease of peas referred to in Europe under the heading of "St. John's disease", and which seems to be most severe during hot dry seasons, is due in part to the presence of the pea root rot Fusarium under discussion. In the summer of 1934 diseased plants were collected from several fields in central and northern Germany, showing symptoms of what was taken to be St. John's disease, and cultured. The results of this survey will be reported elsewhere; it suffices to mention here that a fungus similar in morphology to the American root rot Fusarium, described here in as F. solani v. Martii f. 2, was frequently isolated. The probability that this fungus plays a rôle in the trouble known as St. John's disease, especially in seasons marked by the high temperatures and scarcity of precipitation that characterized the 1934 summer, is also given support by the work of Went (17), who attributed the cause of St. John's disease in Holland during the 1931 and 1932 seasons to a number of Fusaria including F. solani v. Martii.

Taxonomy.

Although some variability in the pathogenicity of Fusarium solani v. Martii f. 2 (F. Martii v. pisi) has been reported (9), which might explain some differences in disease expression, apparently no search for morphologic variability of pathogenic cultures of the fungus has been made. Observations in this direction, reported here, have been made upon one or more single-spore tested cultures from California, Idaho, Wisconsin, Indiana and Maryland, and upon a culture received from Togashi (15) which in turn was originally obtained from F. R. Jones.

All cultures were transferred at the same time to differential media from cultures of the same age. When examined at various intervals the fungi were found to fall into two principal types, based upon morphologic

and supplementary minor differences in macroscopic characters. These two types, represented by the California culture (No. 47) and the Indiana culture (No. 140), both apparently in high culture since pionnotal and sporodochial masses of conidia occurred abundantly upon the various media, differed sufficiently in spore measurements to raise the question of whether or not they were the same fungus. These measurements, taken over a period of 65 days and upon the different media, averaged as follows in the first transfer series:

Average measurements[1]), California culture, No. 47, Series 1. Conidia:

0: septate	8.6 × 3.3	(5.0—14.0 × 2.3—4.3)	to	17%
1: ,,	16.5 × 3.5	(11.0—20.0 × 3.0—3.8)	to	5%
2: ,,	23.4 × 3.6	(20.0—28.0 × 2.0—4.2)	to	3%
3: ,,	30.1 × 4.1	(20.0—41.0 × 3.5—4.5)	to	86%
4: ,,	45.1 × 4.7	(40.0—52.0 × 4.4—5.0)	to	4%
Chlamydospores:				
0: septate	8.0 × 8.0	(7.0—9.0 × 7.0—9.0)		

Average measurements, Indiana Culture, No. 140, Series 1.

Conidia:

0: septate	7.7 — 3.3	(5.0—14.0 × 2.5—4.4)	to	13%
1: ,,	21.0 × 4.5	(16.0—24.0 × 3.5—5 0)	to	4%
2: ,,	28.3 × 4.7	(27.0—30.0 × 4.2—5 3)	to	6%
3: ,,	31.4 × 4.7	(23.0—42.0 × 3.7—5.5)	to	89%
4: ,,	43.4 × 5.1	(38.0—47.0 × 4.7—5.3)	to	3%
Chlamydospores:				
0: septate	8.0 × 8.0	(6.0— 9.0 × 8.0— 9.0)		
1—2: ,,	11.0 × 11.0	(10.0—12.0 × 10.0 × 12.0)		

In both cases the 3-septate conidia were predominant on all media, the average fluctuation for culture No. 47 being 24.3—36.3 × 3.7—4.5, and for culture No. 140, 26.0—36.0 × 4.3—5.1, the latter averaging little more than a half a micron wider than the former. On most media 4-septate conidia were rare.

A comparison of the fungi with the original description of the pathogen showed that culture No. 47 was in very close agreement with J o n e's Fusarium (9), characteristic measurements of which, as given in his Table 1 for 3-septate conidia, average 32.0 × 4.1. Culture No. 140, however, with an average width of 4.7 for 3-septate conidia agreed more nearly with F. s o l a n i (Mart.) App. et Wr. v. m i n u s Wr., and appeared to be related to but distinct from No. 47. These cultural stages are illustrated in Fig. 2 and 3, a—f.

Although the appearance of the cultures indicated that they were in high culture, the technique for bringing the Fusaria into "Hochkultur" as originally described by A p p e l and W o l l e n w e b e r (1), was applied as a matter of routine followed in the current studies. The results, illustrated by the measurements obtained, and the drawings in Fig. 2 and 3, g—k, show an unsuspected wide range of morphological variability, and indicate that cultures No. 47 and No. 140 are of the same fungus.

Average measurements, California culture, No. 47, Series 2.

3-septate conidia:		
Lupine stem	35.8 × 4.7	(29.0—41.0 × 4.3—4.5)
Potato plug	41.1 × 4.5	(34.0—47.0 × 4.2—4.7)
Robinia root	41.2 × 4.7	(35.0—47.0 × 4.5—5.0)
Potato agar	40.5 × 4.5	(36.0—48.0 × 4.3—4.8)
Oatmeal agar	39.8 × 4.8	(29.0—42.0 × 4.5—5.0)
Average of all . . .	39.7 × 4.6	(30.8—45.0 × 4.4—4.8)
4-septate conidia:		
All media	43.8 × 4.7	(43.0—52.0 × 4.4—5.0)

[1]) All measurements are given in microns throughout this paper.

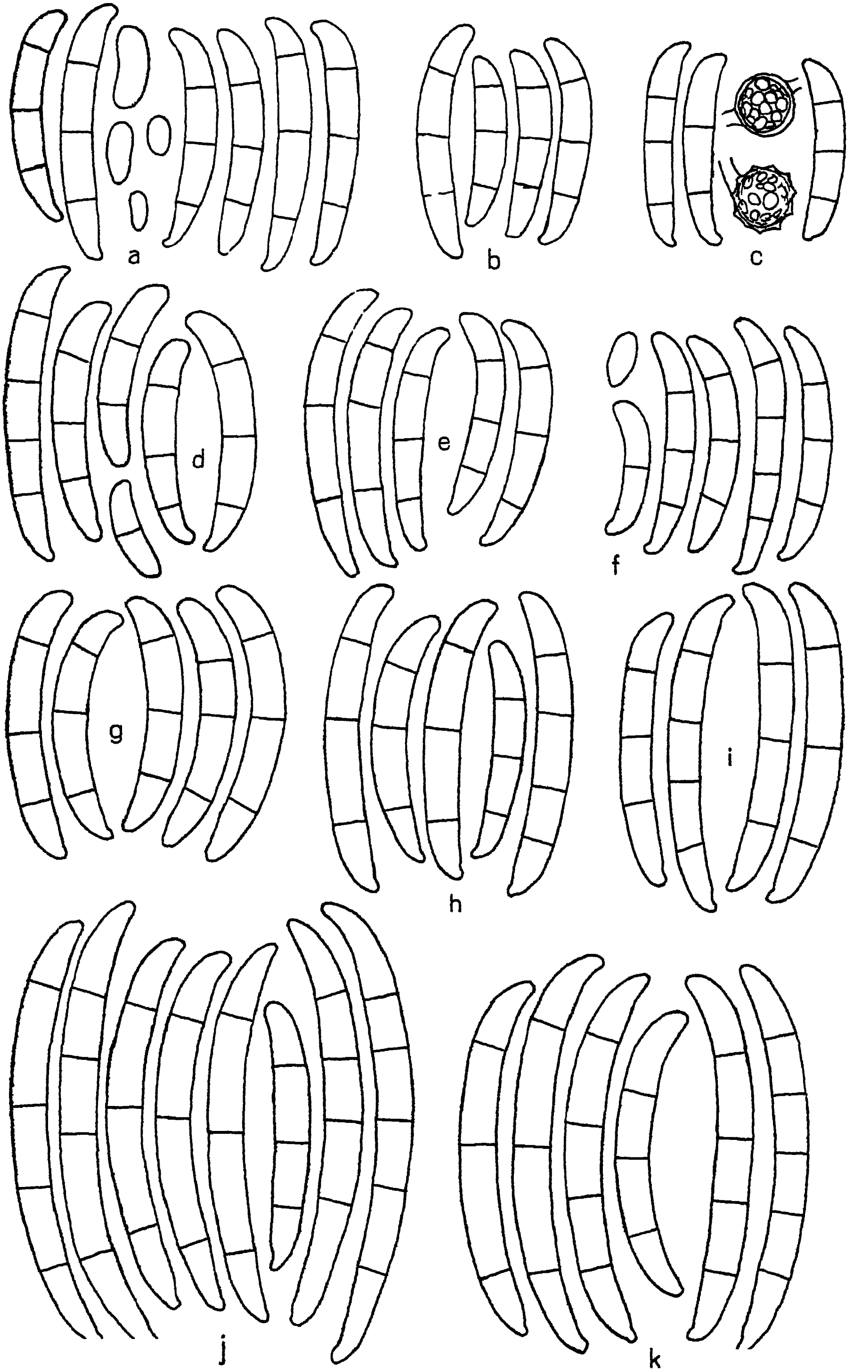


Fig. 2 (Explanation p. 169).

Average measurements, Indiana culture No. 140, Series 2.

3-septate conidia:

Potato plug	38.4 × 4.8	(31.0—44.0 × 4.5—5.3)
Elm twig	43.9 × 4.9	(36.0—58.0 × 4.7—5.2)
Potato agar	39.9 × 4.9	(33.0—47.0 × 4.5—5.3)
Oatmeal agar	37.0 × 4.9	(31.0—41.0 × 4.8—5.2)
Synthetic agar	40.2 × 4.9	(35.0—48.0 × 4.8—5.0)
Average of all	39.9 × 4.9	(35.2—47.6 × 4.6—5.2)

4-septate conidia:

All media	48.5 × 5.0	(42.0—61.0 × 4.6—5.4)

All of the above measurements were made of conidia from pionnotes or sporodochia during a period of several weeks. Up to 100% of 3-septate conidia were obtained from both cultures No. 47 and No. 140, and in certain instances, especially on oatmeal agar, up to 34% 4-septate conidia were found.

It is interesting to note that in the second series the average spore length of 3-septate conidia jumped nearly 10 μ with both fungi while the difference of 0.6 μ between the average widths was narrowed to 0.3 μ. Later, however, culture No. 47 yielded conidia which had the following measurements: 3-septate: 43.8 × 4.9 (32.0—50.0 × 47—5.2) 4- and 5-septate: 47.6 × 4.9 (45.0—51.0 × 4.7—5.0). These measurements agree almost exactly with the average measurements of 3- and 4-septate conidia as obtained from culture No. 140 in series 2. The occurrence of 5-septate conidia was also observed in this series, no reference to which was made in the original description. In series 3 a high culture was obtained, spore averages for which are reported in Table 1, that was in full morphologic agreement with F. solani v. Martii (Table 2).

Six other pathogenic strains of the pea root rot Fusarium from different sources were brought into high culture for comparison with the two types first selected and represented by cultures No. 47 and No. 140. In the first series the average measurements of 3-septate conidia came up to 40.0 × 5.0, and 4-septate conidia which appeared in greater numbers in this series averaged 48.8 × 5.0. These figures were in agreement with measurements also obtained with the culture received from Togashi, originally obtained by him from Jones, and which was subjected to the same treatment: 3-septate conidia, second series 37.0 × 4.9, 4-septate conidia, 50.0 × 5.3.

During the period of observation upon this collection of cultures, covering about 6 months, it was the experience that the morphology of the pea root rot Fusarium became fairly uniform after brought into high culture and maintained there, and that the differences between strains which appeared distinctive in the original cultures became insignificant when all cultures were subjected to an uniform and standardized procedure. The kind of medium, age of the culture, and other factors yielded differences which brought

Fig. 2. Macroconidia, 1000×, from pionnotes and sporodochia of the California strain, No. 47 of the pea root rot fungus, F. solani Martii f. 2, in different stages of culture. a—f, conidia from series 1. a, sporodochium on elm stem, after 28 days; b, sporodochium on elm stem, after 65 days; c, sporodochium on barley ear, after 26 days; d, pionnotes on oatmeal agar, after 28 days; e, pionnotes on potato agar, after 23 days; g—i, conidia from series 2. g, pionnotes on oatmeal agar, after 22 days; h, sporodochium on lupine stem, after 22 days; i, pionnotes on potato agar, after 8 days. j—k, conidia from series 3. j, sporodochium on Robinia root, after 48 days; k, pionnotes on oatmeal agar, after 11 days.

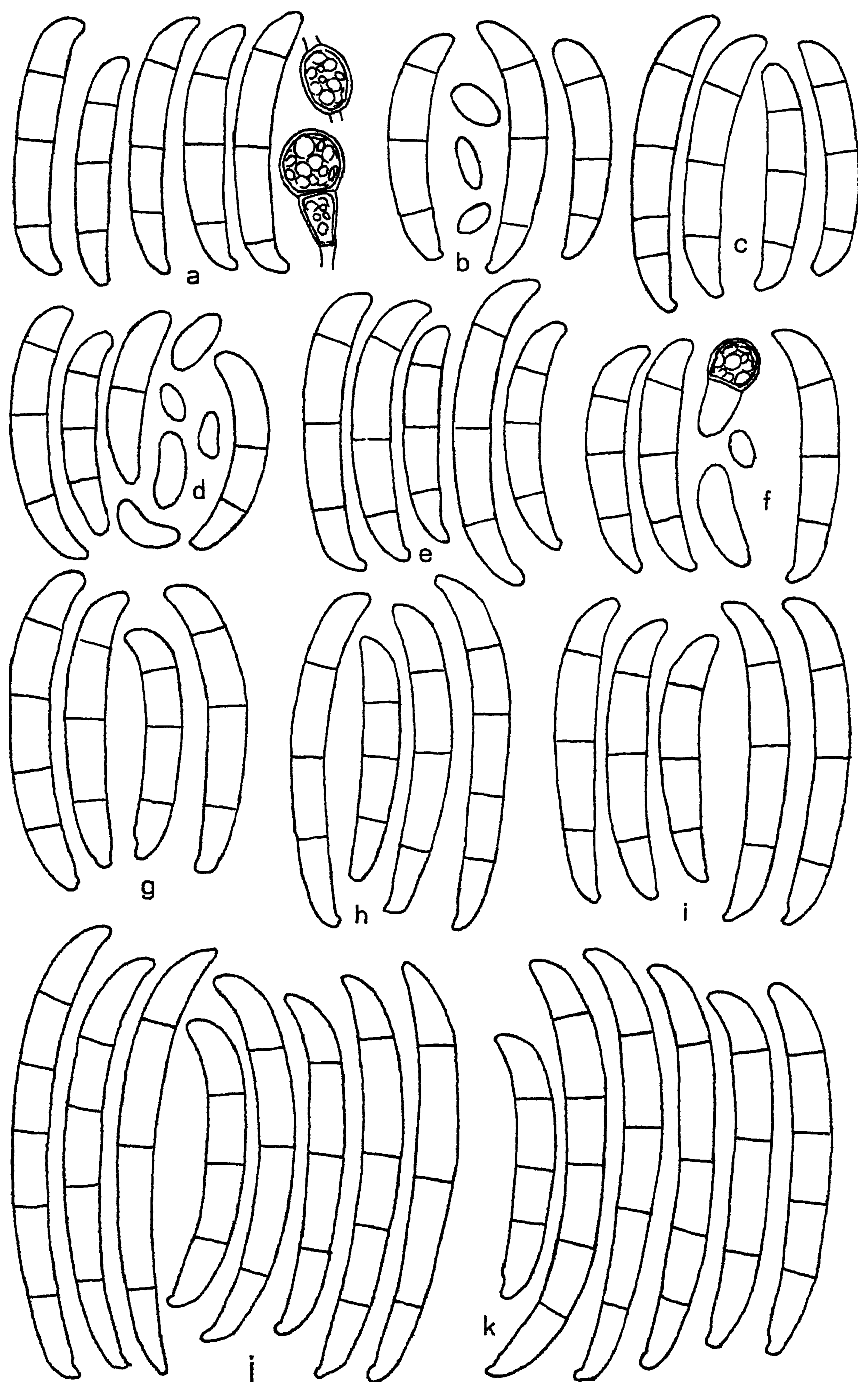


Fig. 3 (Explanation p. 171).

out the range of the fungus in respect to conidial size, septation and color, all of which influence the average condition. Table 1 shows the range in spore measurements of the California isolation of the root rot fungus as obtained in different stages of culture. Parallel series with the Indiana isolation yielded a similar condition of high culture, with spore measurements in series 3 of the same order as that obtained for the California culture.

Table 1.

Range in average measurements of 3-, and 4-, and 5-septate conidia occurring in different culture series started from the same single spore culture, No. 47 from California, illustrating the transition into high culture.

Source of Conidia	Average measuremente of 3-, 4-, and 5-septate macroconidia	%
Potato stem 23 days series 1 sporodochium	3: 30.0 × 3.9 (27.0—36.0 × 3.5—4.5) 4: — — 5: — —	68 0 0
Lupine stem 22 days series 2 sporodochium	3: 35.8 × 4.7 (29.0—41.0 × 4.3—5.0) 4: 40.0 × 4.8 — 5: — —	63 1 0
Robinia root 22 days series 3 sporodochium	3: 44.4 × 5.0 (39.0—50.0 × 4.7—5.3) 4: 50.7 × 5.1 (47.0—58.0 × 4.8—5.4) 5: 52.0 × 5.0 —	82 13 2
Robinia root 48 days series 3 sporodochium	3: 46.0 × 4.7 (36.0—50.0 × 4.5—5.1) 4: 51.6 × 5.0 (47.0—60.0 × 4.8—5.2) 5: 57.0 × 5.1 (53.0—61.0 × 5.0—5.3)	47 40 5

In series 4 no essential variation from the results in series 3 was noted, indicating that the averages obtained in series 3 might be considered normal measurements for high culture of the pea root rot fungus, with the method used. It is expected that by special treatment spores of still larger dimensions and with higher percentages of 4- and 5-septate conidia would be obtained. However the measurements in Table 1 show a fluctuation in spore size that may be expected under ordinary conditions with this fungus, and bring out its similarity to F. solani v. Martii.

It deserves to be emphasized that all of the morphological data recorded here on the strains of the pea root rot Fusarium are based upon conidia from pionnotes and sporodochia. None of these cultures were in the "Abkultur" stage characterized by mycelial growth and a scarcity of macroconidia, as encountered with a culture of the bean root rot fungus which is dealt with later in this paper. All cultures had been recovered relatively recently from

Fig. 3. Macroconidia, 1000×, from pionnotes and sporodochia of the Indiana strain, No. 140, of the pea root rot fungus, F. solani Martii f. 2, in different stages of culture. a—f, conidia from series 1. a, sporodochium on elm stem, after 36 days; b, sporodochium on elm stem, after 65 days; c, sporodochium on barley ear, after 65 days; d, pionnotes on oatmeal agar, after 12 days; e, pionnotes on potato agar, after 28 days; f, pionnotes on synthetic agar, after 36 days. g—i, conidia from series 2. g, pionnotes on oatmeal agar, after 9 days; h, sporodochium on potato plug, after 8 days; i, pionnotes on potato agar, after 9 days. j—k, conidia from series 3. j, sporodochium on elm, after 12 days; k, pionnotes on oatmeal agar, after 13 days.

diseased peas in connection with pathogenicity tests, except where otherwise noted, and were normal cultures in the usual sense of the word. It was therefore of special interest to the writer to observe the transition of sporodochial conidia from those shown in Fig. 2 and 3, a—f, to those in Fig. 2 and 3, g—k, and also recorded in Table 1. Whether the explanation lies entirely in the method in which the cultures were handled, or is to be attributed in part to the environmental factors of light and temperature which prevailed during the study, is not certain. It seems that there can be no question about the authenticity of the cultures, owing to the fact that they were derived from single spores from several tested isolants, and that all behaved in the same manner to the cultural treatment.

Table 2.

Comparative size and frequency (%) of 3-, 4-, and 5-septate macroconidia of certain Martiella Fusaria. All values represent average measurements from sporodochia or pionnotes.

Fusarium	3-septate (%)	4-septate (%)	5-septate (%)
F. solani v. minus[1])	30 × 4.5 (78%)	35 × 4.7 (18%)	36 × 4.8 (1%)
F. solani v. Martii f. 1	39 × 5.0 (67%)	46 × 5.2 (25%)	49 × 5.3 (4%)
F. solani v. Martii f. 2, n. c.	38 × 4.8 (81%)	48 × 5.1 (17%)	52 × 5.1 (2%)
F. solani v. Martii f. 2, n. c.[2]) . . .	45 × 4.9 (65%)	51 × 5.1 (26%)	54 × 5.1 (3%)
F. solani v. Martii f. 3, n. c.	44 × 5.0 (46%)	49 × 5.1 (38%)	56 × 5.2 (2%)
F. solani v. Martii .	44 × 5.2 (32%)	50 × 5.3 (43%)	55 × 5.5 (23%)
F. solani	34 × 5.5 (64%)	42 × 5.6 (23%)	46 × 5.8 (5%)
F. solani v. eumartii	38 × 5.2 (6%)	48 × 5.4 (18%)	59 × 5.8 (54%)
		and 6-septate	67 × 6.0 (8%)

1) The writer is indebted to Dr. H. W. Wollenweber for the average measurements of those fungi listed other than F. solani v. Martii f. 2, and f. 3, and F. solani v. eumartii.

2) These averages represent only those measurements obtained when the fungus was in high culture (see Table 1), and therefore do not include averages of the small conidia shown in Fig. 2 and 3, a—f, but which are contained in the measurements immediately preceding these.

A comparison of the pea root rot Fusarium with closely related Fusaria shows that its spore measurements average too large to be included in F. solani v. minus, unless the diagnosis be based only upon small conidial types, but agrees well with those of F. solani v. Martii f. 1 Wr. (F. Martii v. minus Sherb.). F. solani v. Martii f. 1 is a common soil fungus found both in temperate and tropical regions (11, 12), differing from F. solani v. Martii in characters considered only of form value, principally, in a lower septation. A study of this fungus may justify later its synonymy with F. solani v. Martii, as it is not characterized by any special parasitism. The pea root rot fungus is distinguished from F. solani v. Martii f. 1 upon the basis of its pathogenesis for pea. The pea Fusarium in high culture closely approaches the size and septation of F. solani v. Martii and the bean root rot fungus described by Burkholder (2), found to be morphologically identical with it, but it

differs also from both of these in its pathogenicity. The similarity in the morphology of these Fusaria is illustrated in Fig 4, and average spore measurements given in Table 2, may be compared to those for the pea fungus shown in Table 1.

Since Burkholder (2) found the bean Fusaria would not attack pea, and because of the distinctive parasitism of the pea Fusarium and certain of its minor characters, the pea fungus is placed in this paper as a new form, forma 2, of the trinomial F. solani v. Martii. which recognized member of the Section Martiella it closely resembles morphologically.

Description of the fungus.

The following description for the fungus Fusarium solani (Mart.) App. et Wr. v. Martii (App. et Wr.) Wr. f. 2. n. f.. was given by Jones (9) under the name Fusarium Martii App. et Wr. v. pisi (new var.):

„Aerial mycelium short, white or grayish, sometimes absent when spores are abundant. Pseudopionnotes or sporodochia methyl prussian, zinc, or invisible green, sometimes avellaneous when young. Macroconidia mostly 3-septate, 27—40 × 4.0[1])—4.5 μ, nearly uniform in diameter, typically more curved toward the apex; microconidia present, not abundant. Chlamydospores present in mycelium and in older spores; in mycelium intercalary or terminal, singly or in chains, 8—10 μ in diameter. Sclerotia absent or very rare on old rice cultures only.

Pathogenic in varying degree upon Pisum sativum.

Differs from F. solani v. Martii (F. martii) in having smaller spores, and from F. solani v. Martii f. 1 (Sherbakoff's F. Martii v. minus) in the smaller diameter of its spores[2]), comparative scarcity of sclerotia, and in the predominance of green and blue color in conidial masses."

In addition to the wide range in spore dimensions reported in the present paper, striking contrasts in color have been noted. Jones noted that the predominant color of cultures of the fungus was the green to blue imparted by the conidial masses, although on potato dextrose agar a vinaceous coloration is often produced in the substrate. It should be added that on certain media, such as oat agar and Brown's agar some strains of the fungus produce various shades of brown in the medium, sometimes quite dark. Also, two isolations of the fungus. one from Massachusetts and the other from Idaho, developed a purple or lavender pigmentation of such intensity as to suggest another fungus, although also proven pathogenic on peas. On potato plug in the first series there were no spore masses, but the plug was covered with a deep, dark purple mycelium, and on potato dextrose likewise a very dark lavender mycelial growth covered the surface of the slant which bore no conidial masses, and the medium ranged from a bright red-orange to almost blackish lavender. Examination of the slant revealed

[1]) In the original paper the width is given as 5—4.5 μ, but this appears to be a typographical error. It is assumed it should read 4—4.5, since in an accompanying table giving characteristic spore measurements for the fungus the width in no case goes above 4.5, and the absolute range is reported from 4 to 4.5. Similar measurements were also obtained by Togashi (15) upon the strain sent him by Jones.

[2]) The results reported in the present paper make these distinctions in spore size no longer valid.

an abundance of dark lavender crystals which had accumulated on the surface. These crystals in the presence of acid took on a vinaceous red, or rust color. A similar production of pigment, of somewhat less intensity, occurred upon other media upon which these two strains were grown, and distinctly set them apart from the other strains in which the green and blue pigmentation of the conidial masses accounted for the predominate color of the cultures. However it is of interest that in subsequent series, when brought into high culture this striking difference in pigmentation disappeared, and all cultures were characterized by cream or green to blue pionnotes or sporodochia. These observations are in support of other recent work (14) in which it has been shown that too much emphasis should not be placed upon color developed in culture, owing to the wide range of colors which may be obtained from the same pure culture.

Fusarium solani (Mart.) App. et Wr. var. Martii (App. et Wr.) Wr. forma 2 n. c. (icon. of fig. 2 et 3).

Syn. Fusarium Martii App. et Wr. var. pisi F. R. Jones: Stem and root rot of peas in the United States caused by species of Fusarium. Journ. Agr. Res. Vol. 26. 1923. p. 459—476, ic.)

Fungus a forma 1 recedit praesertim parasitismo contra Pisum sativum, cui morbum perniciosum affert, primo caulim subterraneum penetrans, dein basim plantarum infectarum putrefaciens et necans. Macroconidia 3-, rarius (ca. 17%) 4-, rarissime (2%) 5-septata:

3: 38 × 4.8 plerumque 30—46 × 3.9—5.0 (20—58 × 3.5—5.5),
4: 48 × 5.1 plerumque 40—52 × 4.7—5.3 (38—61 × 4.4—5.5),
5: 52 × 5.1 plerumque 48—57 × 4.9—5.3 (45—60 × 4.7—5.5).

Habitat parasitice in Piso sativo L. in America boreali et Europa centrali[1]).

Bean Root Rot.

Fusarium root rot of bean, Phaseolus vulgaris L., caused by F. solani (Mart.) App. et Wr. v. Martii (App. et Wr.) Wr. f. 3, n. c.; syn. F. Martii App. et Wr. v. phaseoli Burk.

The dry root rot of bean, found in most bean growing regions of the United States, and reported to occur in Europe[2]), is frequently the cause of heavy crop losses. The general occurrence of the disease and its pathology and etiology, are similar in the essential respects to the Fusarium root rot disease of the pea. However since Burkholder (2) found the bean pathogen would not attack pea, it must be considered at least physiologically distinct from the pea Fusarium. Cultures of the fungus used in the following taxonomical observations include a sub-culture of the Burkholder strain as deposited in the Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, Holland, and fresh isolations from root rot infected beans from western United States.

[1]) Since the completion of this manuscript, F. solani v. Martii f. 2 has been found by the writer in Germany. Inoculation trials have proved the pathogenicity of the German strain of the fungus, isolated in the summer of 1934.

[2]) Ogilvie, L., Observations on the diseases of market-garden crops in the Vale of Evesham. (Ann. Rep. Agr. a. Hortic. Res. Stat., Long Ashton, Bristol, for 1929, p. 149—154. 1930.)

Benlloch, M., and Del Canizo, J., La enfermedad de las Alubias en Barco de Avila (Fusariosis). (Boletin de la Estacion de Patologia Vegetal Madrid. I, 1: 1—7, 1926.)

Pathology.

First symptoms appear a week or two after emergence of the bean plant above ground at which time a reddish discoloration may be observed upon the taproot, either in streaks or indefinite lesions. As the disease progresses the diseased areas turn brown and longitudinal fissures may appear in the cortex. The disease destroys the end of the tap root and lower lateral roots which shrivel and dry, and new lateral roots which push out through or above the diseased cortex also subsequently are subject to infection. As in the case of pea root rot the new roots, which appear progressively higher upon the plant, may enable growth to persist the remainder of the growing season under favorable environmental conditions. At times the fungus has been observed to invade and discolor the vascular elements following a decay of the cortical tissue, and this vascular invasion may be attended by a more rapid failure of the plant, although the disease is not primarily of the wilt type.

Symptoms on the aerial part of the plant are not usually of a distinctive character, appearing late as dwarfing, yellowing or prematurity, with few or poorly developed pods.

In inoculation experiments in the greenhouse and field, Burkholder (2) found the following plants susceptible to the fungus: Phaseolus vulgaris L., P. acutifolius Gray v. latifolius Freem., P. coccineus L., P. multiflorus Willd., P. aconitifolius Jacq., P. lunatus L., P. angularis Wight, Vigna sinensis (L.) Endl. and Dolichos biflorus L. Negative results were obtained with Pisum sativum L., v. arvense Poir., Trifolium pratense L., T. hybridum L., Vicia sp., Soja max Piper, Zea mays L., Solanum tuberosum L., Avena sativa L., Triticum sp., Ambrosia artemisiifolia L., Prunella vulgaris L., Chenopodium album L., and Rumex sp.

Temperature seems to be one of the chief limiting factors for the disease, infection taking place between 15° and 34° C. Moisture is important in that if lacking after new roots have emerged from the diseased plant near the soil surface, the plants rapidly decline, whereas otherwise maturity might be attained. Burkholder (3) also showed that the disease results in a greater reduction in yield in dry than in medium wet or wet soils.

Taxonomy.

In the original description of the organism causing Fusarium root rot of bean, Burkholder (2) pointed out its morphological similarity to F. solani v. Martii (F. Martii). Upon the basis of purely morphological characters, such as the size and shape of the various conidial and chlamydosporal forms, the bean pathogen appeared indistinguishable from the F. solani v. Martii commonly isolated from potatoes and other plants but was distinct physiologically. In pathogenicity trials infection was obtained only with the isolation from root rot affected beans, all other type cultures of F. solani v. Martii giving negative results, thereby establishing the identity of the bean fungus.

Revival of a nine year-old culture.

The culture of the bean fungus received from Baarn, was a sub-culture from the Burkholder strain deposited by Leonian in 1925. This nine

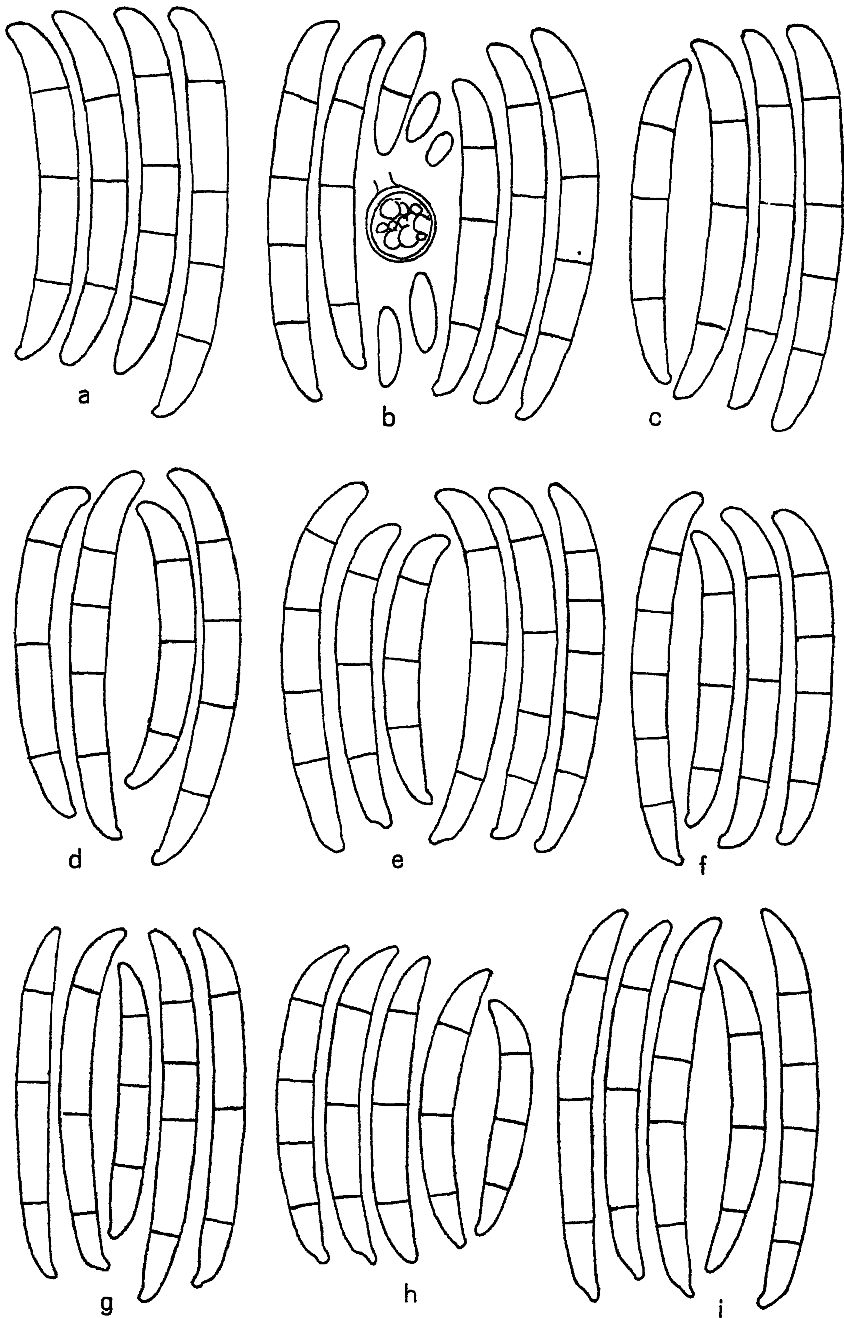


Fig. 4 (Explanation p. 177).

year-old culture, when received. was typical of the "Abkultur" stage described by Appel and Wollenweber for Fusaria which have undergone marked changes following long periods of time in pure culture. The

appearance of the fungus upon various culture media agreed with Burkholders (4) observations upon a 6 year-old culture of the bean pathogen. Instead a scant mycelial growth and copious masses of blue-green macroconidia occurring in sporodochia and in pionnotal sheets upon various culture media, as is the case in fresh isolations, this culture was characterized by the absence of pionnotal or sporodochial masses, by the absence of any pigment production, and by the presence of a fluffy white growth of aerial mycelium, on all media employed. As Burkholder observed, the Abkultur of the bean Fusarium presented an appearance of being a distinctly different fungus. Microscopic examination revealed further differences. Microconidia were plentiful, but macroconidia were scarce, and when found were generally lower in septation and abnormal in both size and shape, tending to be shorter and broader than normal conidia (1), and to be somewhat wanting in respect to spore curvature and in the details of foot and apex characteristic for the fungus. Burkholder (4) has recorded amply measurements of conidia from both of these stages of culture.

By passing the Abkultur of the bean Fusarium through its host, Burkholder (4) was able to regain a fungus more nearly resembling that upon which his original description of F. Martii v. phaseoli was based, in fact, only a return to its original host plant brought back to any extent its former characters. In view of the results the writer obtained with the pea root rot Fusarium, discussed in the first part of this paper, an attempt was made to revive the nine year-old culture from Baarn, purely by cultural methods after the technique of Appel and Wollenweber (1). The result was, that following several transfer series, normal macroconidia were plentiful, and in the subsequent series deep blue-green pionnotes on agar media and sporodochia on natural media were obtained. Sometimes white to cream plectenchymatic cushions, even as large or larger than a pea, were observed on Robinia root during the transition of the fungus. A vinaceous pigmentation of the medium was also observed in some cases, as with the pea Fusarium. Conidia of the high culture obtained from the nine year-old Burkholder strain of the bean Fusarium are shown in Figure 4. and the average measurements were as follows:

3-septate: 43.2 × 5.0 (33.0—52.0 × 4.5—5.5) to 100%
4-septate: 50.0 × 5.1 (39.0—62.0 × 4.8—5.5) to 32%
5-septate: 57.3 × 5.2 (54.0—62.0 × 5.0—5.5) to 3%

This experience demonstrated that it was possible to revive the Abkultur of the Fusarium used, after it had been in culture many years, to a point where it was again in agreement with the description of the original, merely through the use of cultural methods.

Fig. 4. Macroconidia, 1000×, from pionnotes and sporodochia of the bean root rot fungus, F. solani v. Martii f. 3, a—c; and from other Fusaria possessing a similar conidial morphology, including F. solani v. Martii, d—f; and F. solani v. Martii f. 1, isolated by Reinking (11), g—i. The isolations represented by d—f, have not been tested for pathogenicity, therefore it is not known if they may belong to the parasitic formae 2 and 3. a, pionnotes on oatmeal agar, after 50 days; b, pionnotes on medium made from decoction of Robinia root, after 35 days; c, sporodochium on Robinia root, after 30 days. d, from lima bean, California. pionnotes on oatmeal agar, after 13 days; e, from pea, Germany, pionnotes on potato agar, after 14 days; f, from strawberry, Germany, pionnotes on potato agar, after 22 days. g and h, pionnotes on potato agar, after 20 days; i, pionnotes on potato plug, after 15 days.

A fresh isolation of the bean root rot fungus recovered from diseased beans grown in Idaho during the 1934 season, and proved to be pathogenic in an inoculation test made by the writer, yielded conidia having the following average measurements:

3-septate: 44.6 × 5.0 (35.0—52.0 × 4.5—5.5) to 100%
4-septate: 48.1 × 5.1 (39.0—56.0 × 4.7—5.5) to 81%
5-septate: 53.0 × 5.1 (52.0—58.0 × 5.0—5.5) to 2%

Comparison With Related Fungi.

The morphologic agreement between the bean Fusarium and F. solani v. Martii (F. Martii) has already been pointed out, and the similarity to the pea root rot fungus F. solani v. Martii f. 2 has been dealt with earlier in this paper. However it is of interest to compare, further, normal conidia of the bean pathogen with those of isolations of F. solani v. Martii from various sources, a few of which are illustrated in Figure 4. In Figure 4, d, are type conidia from an isolation made from a root rot of lima bean, Phaseolus lunatus, in California. The spore and other characters of the fungus place it as F. solani v. Martii. The spore masses were more of a deep blue than a blue-green, but morphologically the fungus is the same as that described by Burkholder, and only a positive test on pathogenicity is necessary to complete its identity with F. solani v. Martii f. 3. Other isolations of F. solani v. Martii are illustrated in e, and f, of Figure 4. If e were found parasitic on pea, from which it was isolated, it would be placed as forma 2, but lacking pathogenicity data upon this isolation obtained from a diseased specimen in Germany (see footnote [1] on page 174), the morphology permits its determination only as plain F. solani v. Martii. The illustrations g, h and i of Figures 4 bring out the similarity of F. solani v. Martii f. 1 to F. solani v. Martii and the forma on bean, and these slight differences are also shown in the averages for spore measurements and septations listed in Table 2. These illustrations, although necessarily limited in scope, are intended to indicate the morphologic agreement of certain Fusaria isolated from various substrates in different parts of the world, and to emphasize that although they are morphologically similar, certain of them are physiologically distinct, and for this reason these have been made forms of the morphologic species-variety represented by the trinomial F. solani v. Martii.

Description of the Fungus.

The following description for the fungus Fusarium solani (Mart.) App. and Wr. v. Martii (App. et Wr.) Wr. f. 3, n. c. was given by Burkholder (2) for Fusarium Martii App. et Wr. v. phaseoli (new var.):

"Macroconidia mostly 3-septate (44.5 × 5.1), 4-septate (50.09 × 5.3), rarely 5-septate, of nearly even diameter throughout more or less curved near apex, with somewhat rounded or but slightly pointed apex, usually apedicellate. Microconidia rare. Aerial mycelium in culture scanty and usually white. Spores borne mostly in pseudopionnotes. Cultures when mature from a lichen and montpellier green (on synthetic agar [Richards solution 2% agar]) to a pale olive-buff or cinnabar-green (on steamed rice). Spores in mass frequently yellowish. Chlamydospores terminal or intercalary, single or in short chains (11.6 μ in diameter)."

Fusarium solani (Mart.) App. et Wr. var. Martii (App. et Wr.) Wr. forma 3 n. c. (ic. cf. fig. 4, a—c).

Syn. Fusarium Martii App. et Wr. var. phaseoli W. H. Burkholder: The dry root rot of bean. Cornell Agr. Exp. Sta. Memoir 26. Ithaca: 999—1033. 1919, ic.

Fungus a forma 2 recedit praesertim parasitismo positivo contra species varias Phaseoli, Vignae sinensis, Dolichos biflori (negativo vero contra Pisum sativum, Trifolium, Viciam, Sojam etc.), quibus morbum perniciosum ceterum Fusariosi Pisi similem affert, primo caulim subterraneum penetrans, dein basim plantarum putrefaciens et necans. Macroconidia plerumque 3-septata 44.0 × 5.0, rarius 4-septata 49.0 × 5.1, rarissime 5-septata 56.0 × 5.2.

Habitat (sec. Burkholder) parasitice in Phaseolo vulgari L., P. acutifolio Gray v. latifolio Freem., P. coccineo L. (P. multifloro Willd.), P. aconitifolio Jacq., P. lunato L., P. angulari Wight, Vigna sinensi (L.) Endl., Dolichos bifloro L.; saprophytice in Piso sativo L.. var. arvensi Poir., Trifolio pratensi L., T. hybrido L., Vicia sp., Soja max Pip. etc. in America boreali, et Europa.

A similar Root Rot of Potato.

A disease of the potato, Solanum tuberosum L., deserves mention here because of its similarity to the pea and bean root rots both in respect to symptoms and cause. This disease, characterized by a root, stem, and tuber rot, (wilt) produced by F. solani v. eumartii (Carp.) Wr. (synonym. F. eumartii), has been shown (5, 6, 7, 8) to be an important disease in certain parts of the United States. Goss (6) reports that infection takes place through the roots or stems in soil infected with the fungus, or through infected seed, and may spread to all below-ground parts of the plant. The fungus, as in the case of the pea and bean root rots, is primarily in the cortex, which may become dark brown to almost black. Small roots may be completely destroyed and the stem served in the region of the seed.

The browning of the vascular system, which is often sterile (6), follows invasion of the cortex and appears as a secondary wilt-like symptom. Although the disease is generally referred to as "potato wilt", the fact that it is primarily a cortical decay, closely resembling in temperature and moisture relationships and in both pathological and etiological respects the root rots of pea and bean, shows that its nature is typically that of a Fusarium root rot.

Observations made upon a sub-culture of Goss' strain of F. solani v. eumartii, yielded results essentially in agreement with those already reported by Carpenter (5) and Goss (6). Spore measurements and septation frequencies were of a lower order in the first series than given in Goss' measurements, but of a higher order in later series, equalling those of Carpenter's (5). The average conidial size and septation for all series were as follows:

3-septate: 38.0 × 5.2 (25.0—44.0 × 4.8—5.6) to 10%
4-septate: 48.0 × 5.4 (36,0—57.0 × 5.0—6.0) to 24%
5-septate: 58.7 × 5.8 (40.0—74.5 × 5.3—6.5) to 58%
6-septate: 67.0 × 6.0 (56.0—77.0 × 5.5—7.0) to 18%

It will be seen from the average conidial measurements listed in Table 2. and from Fig. 3, 4, and 5, that F. solani v. eumartii is distinct morphologically from all the others with which it may be compared, although possessing the same general characteristics. The conidia are broader than F. solani v. Martii and longer than F. solani, and the septation is higher than either. Differences from the others are still greater.

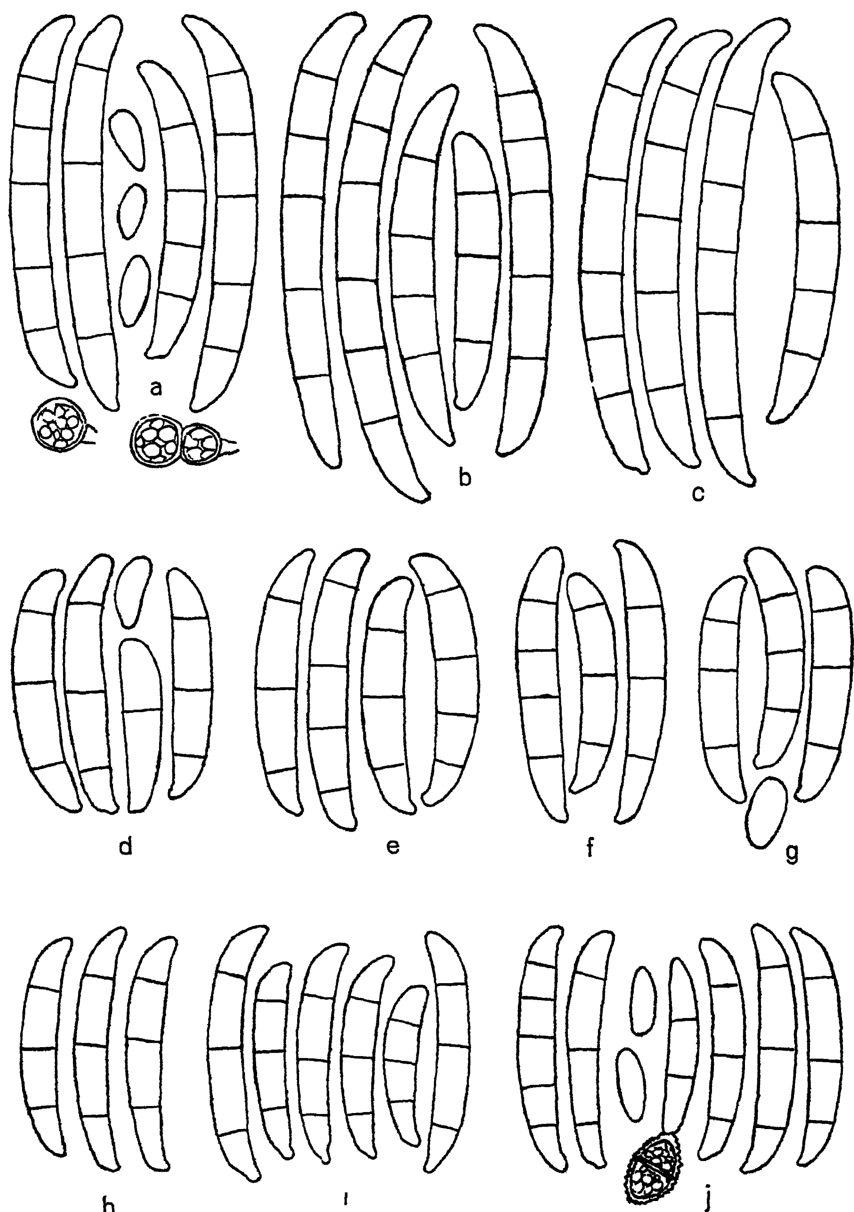


Fig. 5 (Explanation p. 181).

Discussion.

In a study of variation in the bean Fusarium, Burkholder (4) called attention to the desirability of showing the relationship in a taxonomic way that seems to exist between certain Martiella Fusaria. These Fusaria are dealt with in the present paper. To quote from Burkholder:

"For instance, we have in the Martii group the original species F. Martii . . ., two varieties listed by Sherbakoff (13), F. Martii . . . v. minus . . . and F. Martii . . . v. viride . . .; F. Martii v. pisi . . ., a variety recently described as parasitic on the roots of pea (9); the form species F. Martii . . . v. phaseoli . . . dealt in this article: and F. eumartii . . . (5) which cause a disease of potatoes. No doubt other forms belong also to this group. All these fungi vary from each other by single or minor characters, and it is probable they all had a common origin. That some plan might be adopted to hold such groups together in a taxonomic way to show the relationship as it is found in this case, would seem highly desirable."

A like conclusion was reached in a study (14) of closely similar Fusaria of section Elegans wherein it was thought advisable to denote in the taxonomy both the close similarity in physical characters of certain vascular Fusaria and their peculiar phyiological specifity as expressed by pathogeneses for their respective host plants. To accomplish this end by the use of variety names proves unsatisfactory from the standpoint of taxonomy, owing to an understanding that the variety name carries distinct morphologic value. The use of formae, on the otherhand, to indicate chiefly physiologic characters, is serviceable to both taxonomist and pathologist in arriving at the terminology of these organisms. This plan has been followed by Wollenweber (19) in the Fusarium-Monographie and is further extended in the study reported here, and in the opinion of the writer clarifies the position of these fungi from the standpoints of both taxonomy and pathology. The synonymy of the Fusaria in the paragraph quoted from Burkholder, according to the new taxonomy, is as follows:

F. Martii	=	F. solani v. Martii
" " v. minus	=	" " " " f. 1
" " " viride	=	" " " " f. 1
" " " pisi	=	" " " " f. 2
" " " phaseoli	=	" " " " f. 3
" eumartii	=	" " " eumartii

It will be seen from this tabulation that where formerly six species or species-varieties existed, only two species-varieties are still recognized as being distinct morphologically. The justification for the change in taxonomy in the cases of F. Martii v. pisi and F. Martii v. phaseoli, has been given in the body of this paper. The other changes have already been made by Wollenweber (19). It is clear that when under ordinary cultural conditions stages of one of these fungi, for example F.

Fig. 5. Macroconidia, 1000×, from pionnotes and sporodochia of the potato root rot fungus, F. solani v. eumartii (Goss' strain), a—c; of the common soil saprophyte, F. solani, obtained from decayed tissues of various plants, d—g; and of F. solani v. minus, also from decayed plant material, h—j. a, pionnotes on potato agar, after 33 days, series 1; b, pionnotes on oatmeal agar, after 13 days, series 2; c, pionnotes on potato agar, after 13 days; series 2. d, from sweet potato, pionnotes on oatmeal agar, after 45 days; e, from potato, sporodochium on lupine stem, after 20 days; f, from watermelon, sporodochium on potato plug after 35 days; g, from cotton, sporodochium on barley ear, after 37 days. h, from sweet potato, pionnotes on potato agar, after 30 days; i from orchid, pionnotes on potato plug, after 36 days; j, from asparagus, pionnotes on potato agar, after 25 days.

Martii v. pisi, are found which agree morphologically at one time or another with five other fungi in the above tabulation, and even with F. solani v. minus, determination of the fungus becomes most difficult. In Table 1 is illustrated the wide range of conidial size and septation which may be obtained with such a fungus, a range which covers all of the above named fungi except the variety eumartii. In the revised taxonomy these fungi are recognized as being of the same morphologic type, designated by the trinomial F. solani v. Martii, possessing some differences in spore size but differences which have not proved to be practical from the taxonomic standpoint, owing to an over-lapping in this character. The final distinction between these fungi lies with their physiologic behavior in respect to certain species of growing plants.

Since average conidial measurements, taken in different stages of culture, may differ greatly between themselves, as is shown in Table 1, a grand average of all averages is seen to tell only a part of the story. The question arises as to how much value should be given to the averages of conidia from those stages of the fungus which do not represent a high culture. For this reason the data in Table 1 gives a more representative impression of the fungus, F. solani v. Martii f. 2 than an average of all the averages, as recorded in Table 2.

In light of the similarities displayed in the morphology of the organisms causing the stem and root rots of pea, bean and potato. it is not surprising that the diseases should agree closely among themselves in type, as do the wilt diseases caused by the typically vascular Fusaria of section Elegans. The Martiella Fusaria, as typified by those dealt with here, are primarily cortical in nature and therefore produce root rot symptoms, while certain of the Elegans Fusaria are principally xylar and so may cause a wilting of the plant unattended by any conspicuous evidence of cortical injury. In advanced stages of disease other tissues become invaded, and as a result a set of secondary symptoms may appear. This is illustrated in the pea, bean and potato diseases by the invasion of the vascular cylinder following complete decay of the cortical sheath of root or stem. The rot may become so deep as to sever the plant from its roots, while the vascular system may show distinct wilt-like symptoms.

These characteristics of the diseases, and of the organisms causing them, set apart from other Martiella fungi F. solani v. Martii f. 2, F. solani v. Martii f. 3, and F. solani v. eumartii, as pathogens typically affecting the cortex of the subterranean organs of their respective hosts.

Summary.

The writer reports the results of a taxonomic study upon certain members of the Section Martiella of the genus Fusarium Most emphasis has been given to the pathogens of Pisum sativum and Phaseolus vulgaris, although the pathogen of Solanum tuberosum and some non-parasitic Fusaria of Section Martiella have been dealt with for means of comparison.

The cultures of the pea, bean, and potato organisms used in these studies represent single-spore lines of Fusaria that have been tested and proved to be pathogenic.

The differences in strains of the pea root rot Fusarium in respect to pigmentation of the culture, conidial size, and the frequency of septation, that at first appeared to be of species or varietal rank, were found to have minor significance after the wide range of characteristics for the pathogen became known. In the case of each of the single-spore pathogenic strains of the pea organism studied stages of culture with small macroconidia were obtained resembling F. solani v. minus, and later with larger ones agreeing with F. solani v. Martii, yet in every instance the spores measured were obtained from sporodochia or pionnotes.

Owing to the broad range in morphology which exists in the pea Fusarium, an enlargement of the fungus description has been necessary; and since the pathogen when in high culture agrees closely in morphology with the saprophyte F. solani v. Martii, an alteration in the nomenclature has been made conforming with the revised taxonomy of the genus, at the same time recording in the terminology a pathogenesis for pea.

The Martiella Fusarium, cause of the foot and root rot of pea, is described as F. solani v. Martii f. 2, n. c.; synonym F. Martii v. pisi.

A nine year old Abkultur of the bean root rot Fusarium producing predominantly a fluffy white mycelial growth with no pigment, no pionnotes, no sporodochia, and only occasional macroconidia, was sufficiently revived by purely cultural methods that it yielded an abundance of normal macroconidia in typical blue-green pionnotes and in sporodochia. Average measurements of the spores agreed with those of a fresh isolation of the bean root rot fungus. Previously it has been reported that only a passage through the host plant brought back to any extent the former characters of the fungus.

In conformation with present Fusarium taxonomy, and because of morphologic agreement with the non-parasitic soil fungus F. solani v. Martii, the bean root rot fungus is described as F. solani v. Martii f. 3, n. c.; synonym, F. Martii v. phaseoli.

A summary of the pathology of the Fusarium stem and root rots emphasizes the similarity in the nature of the diseases caused by the closely similar pathogens F. solani v. Martii f. 2, F. solani v. Martii f. 3, and F. solani v. eumartii, respectively. The diseases in each case are characterized primarily by an invasion and reddish-brown to dark brown or almost black rot of the cortex of the below-ground stem and root, and are frequently followed by secondary, wilt-like symptoms.

Literature.

1. Appel, O., and Wollenweber, H. W., Grundlagen einer Monographie der Gattung Fusarium (Link). (Arb. Biol. Reichsanstalt Land- u. Forstw. Berlin-Dahlem. Bd. 8. 1910. S. 1—207.) — 2. Burkholder, W. H., The dry root rot of bean. (Cornell Agr. Exp. Stat. Memoir Ithaca. Vol. 26. 1919. p. 999—1033.) — 3. Burkholder, W. H., The effect of varying soil moisture on healthy bean plants and on those infected by a root parasite. (Ecology. Vol. 2. 1924. p. 179—187.) — 4. Burkholder, W. H., Variation in a member of the genus Fusarium, grown in culture for a period of 5 years. (Amer. Journ. Bot. Vol. 12. 1925. p. 245—253.) 5. Carpenter, C. W., Some potato tuber rots caused by species of Fusarium. (Journ. Agr. Res. Vol. 5. 1915. p. 183—209.) — 6. Goss, R. W., Potato wilt and stem-end rot caused by Fusarium eumartii. (Nebr. Agr. Exp. Stat. Res. Bull. Vol. 27. 1924.) — 7. Goss, A survey of potato scab and Fusarium wilt in Western Nebraska (Phytopath. Vol. 24. 1934. p. 517—527.) — 8. Haskell, R. J., Potato wilt and tuber rot caused by Fusarium eumartii. (Phytopath. Vol. 6.

1916. p. 321—327.) — 9. Jones, F. R., Stem and root rot of peas in the United States caused by species of Fusarium. (Journ. Agr. Res. Vol. 26. 1923. p. 459—476.) — 10. Linford, M. B., A Fusarium wilt of peas in Wisconsin. (Wisconsin Agr. Exp. Stat. Res. Bull. Vol. 85. 1928.) — 11. Reinking, O. A., and Manns, M., Parasitic and other Fusaria counted in tropical soils. (Ztschr. f. Parasitenkde. Bd. 6. Heft 1. 1933. S. 23—75.) — 12. Reinking, O. A., and Wollenweber, H. W., Tropical Fusaria. (Philippine Journ. Sci. Vol. 32. 1913. p. 103—253.) — 13. Sherbakoff, C. D., Fusaria of potatoes. (Cornell Agr. Exp. Stat. Memoir Ithaca. Vol. 6. 1915.) — 14. Snyder, W. C., Variability in the pea wilt organism, Fusarium orthoceras v. pisi. (Journ. Agr. Res. Vol. 47. 1933. p. 65—88.) — 15. Togashi, K., Three Fusaria which cause the wilt disease of pea. (Jap. Journ. Bot. Vol. 4. 1928. p. 153—188.) — 16. Walker, J. C., and Snyder, W. C., Pea wilt and root rots. (Wisconsin Agr. Exp. Stat. Bull. Vol. 424. 1933.) — 17. Went, J. C., Fusarium-Aantastingen van Erwten. Utrecht. 1934. 83 p. — 18. Wollenweber, H. W., Studies on the Fusarium problem. (Phytopath. Vol. 3. 1913. p. 25—50.) — 19. Wollenweber, H. W., Fusarium-Monographie. Fungi parasitici et saprophytici. (Ztschr. f. Parasitenkde. Bd. 3. 1931. Heft 3.) — 20. Wollenweber, H. W., Hyphomycetes in Sorauer, Handbuch. Bd. 3. 5. Aufl. 1932.

Zur Biologie der Bakterienkolonie.

[Aus dem pflanzenphysiologischen Institut der Karlsuniversität in Prag.]

Von **J. Kořínek.**

Mit 12 Abbildungen im Text.

Einleitung.

Die Mikrobenkolonie ist in den letzten Jahren Gegenstand eines eifrigen Studiums geworden, wozu hauptsächlich die Arbeiten J. A. Arkwrights (1) Anlaß gegeben haben. Zusammenfassend berichtet hierüber P. Hadley (4). Eine ähnliche Richtung verfolgen die Arbeiten über die Gesetze der Mikrobenpopulation. Hier hat O. Bail (2) den Begriff „M-Konzentration“ in die Mikrobiologie eingeführt. Die M-Konzentration bei Mischkulturen ist von L. Wikullil (12) und in unserem Institut von A. Jegorov untersucht worden. Sehr beachtenswert sind auch die Angaben von J. Hirsch (5), der die Bakterienpopulation als biologische Einheit betrachtet. Nach ihm lassen sich in einer Kolonie eine kleine und eine große Wachstumsperiode, eine generative und eine vegetative Phase unterscheiden. C. E. A. Winslow (13) hat über die Populationsgesetze zusammenfassend berichtet. Von Wechselseitigkeitsbeziehungen, Antagonismus und Symbiose handeln ebenfalls zahlreiche Arbeiten, von denen die älteren von E. Küster und die neueren von W. L. Holmann (6) aufgeführt werden. Bei meinen Studien über die Koloniestruktur habe ich mich der Methode von R. Legroux und J. Magrou (9) bedient, mit deren Hilfe ich schon früher (8) die Struktur der R- und S-Kolonien bei Mykobakterien untersucht hatte und M. Pišova diejenige der Kolonien von Saccharomyces cerevisiae.

Die Glasrandkultur.

Unter einer Glasrandkultur ist eine Bakterienkultur zu verstehen, die auf gewöhnlichem festen Nährboden (Agar oder Gelatine) am Rande eines Glasstückchens entlang gewachsen ist (Abb. 1). Ein solches Wachstum einer

Bakterienkolonie wird dadurch erreicht, daß in unmittelbare Nähe eines in einer Petrischale auf dem Agar liegenden sterilen Glasstückchens geimpft wird. Am Glasrand hält sich eine durch kapillare Kräfte gebundene dünne Flüssigkeitsschicht, in der sich die Bakterien zur selben Zeit wie auf dem festen Nährboden ausbreiten und vermehren können. Der verwendete Agar darf allerdings nicht zu alt sein, damit er noch genügend Flüssigkeit ausscheidet. Der Bakterienkolonie ist es somit ermöglicht, gewissermaßen auf einem zweiphasigen Kulturmedium von sonst ziemlich gleicher Beschaffenheit zu wachsen, so daß die Ausbreitungsgeschwindigkeiten in der flüssigen und auf der festen Phase unmittelbar verglichen werden können.

Die Kolonie wächst am Glasrand in schmaler Zone entlang, ohne an den Ecken eines Objektträgers oder Deckglases ebenfalls eine eckige Form anzunehmen. Sie ist stets von abgerundeten Linien begrenzt. Die Frage, ob eine Bakterienkolonie wie pflanzliches Kallusgewebe fremde Körper überwachsen kann, muß verneint werden. Niemals konnte beobachtet werden, daß sich die Kolonie auf ein noch so dünnes Glasplättchen in nennenswerter Entfernung vom Rande ausbreitet. Damit ist zugleich auch eine Frage nach der Nährstoffversorgung der Zellen in der Kolonie beantwortet. Einen Nährstofftransport von Zelle zu Zelle wie in der höheren Pflanze gibt es also in der Bakterienkolonie nicht. Ihr ist infolgedessen Wachstum auf Distanz wie bei der Kallusbildung nicht möglich. Zellen, die von der Nährstoffquelle entfernt sind, scheinen keine Vermehrungsfähigkeit zu besitzen.



Abb. 1. Bact. prodigiosum in Glasrandkultur.

Unter dem auf der Agaroberfläche sehr fest haftenden Glas wurden bei Glasrandkulturen ebenfalls keine oder nur sehr wenig Bakterien gefunden. Für Aerobe ist das ohne weiteres verständlich, nicht aber für fakultativ anaerobe, wie z. B. Bact. vulgare. Als Ursache für dieses Verhalten kann der Widerstand angesehen werden, den die Bakterien zu überwinden hatten, wenn sie unter das Glas vordringen wollten. Wenn wir auch hier die Verhältnisse mit denen beim Pflanzengewebe in Vergleich zu setzen wagen, so geht daraus hervor, daß eine Bakterienkolonie bei weitem nicht so große Festigkeit besitzt wie echtes Pflanzengewebe, die es z. B. einer Wurzel erlaubt, auch in verhältnismäßig harte Substrate einzudringen.

Was nun die Geschwindigkeit betrifft, mit der sich die Kolonien verschiedener Bakterienarten in der flüssigen Phase ausbreiten, so könnte man annehmen, daß sie von der entsprechenden Geschwindigkeit auf der festen Phase oder der Beweglichkeit oder etwa der Wachstumsform (S- und R-Form) der jeweiligen Art abhängig sei. Jedoch haben wir durch unsere zahlreichen Versuche solche Annahmen nicht bestätigen können. Z. B. verbreitet sich der unbewegliche Bac. anthracoides ebenso schnell oder noch schneller als die beweglichen Bact. pyocyaneum, Bact. prodigiosum und Bact. coli. Bact. prodigiosum bildet auf festem Nährboden typische S-Kolonien, Bac. anthracoides dagegen R-Kolonien. Nach einer Woche betrug der Durchmesser der Kolonien auf dem festen Agar bei Bac. anthracoides 46 mm, bei Bact.

prodigiosum 8 mm. Die entsprechenden Werte fur die Lange der Kolonien am Glasrande sind 67 bzw. 62 mm. Folglich ist das Verhaltnis der Koloniegroßen von Bac. anthracoides : Bact. prodigiosum auf festen Medien = 5,75 und in der flussigen Phase des Glasrandes = 1.08. Die entsprechenden Verhaltniszahlen fur Bac. anthracoides und die wie Bact. prodigiosum S-Kolonien bildende, aber unbewegliche Sarcina lutea sind 7,66 bzw. 1,32.

Aus diesen und zahlreichen anderen Beobachtungen schließen wir, daß die Ausbreitungsgeschwindigkeit der Bakterienkolonien in der flussigen Phase am Glasrande weder von der entsprechenden Geschwindigkeit auf festem Nahrboden noch von der Beweglichkeit der Zellen oder von der R- oder S-Form unmittelbar abhangig ist.

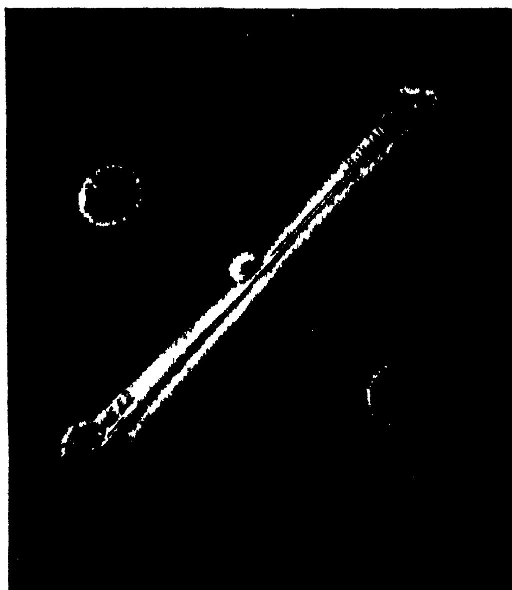


Abb. 2. Bact prodigiosum. Zwei freiliegende Kolonien und eine Glasrandkultur. Impfstelle oberhalb der Mitte einer Glaskapillare.

Bei den meisten Bakterien dringt die Mehrzahl der Individuen einer Glasrandkultur in der Richtung des geringeren Widerstandes vor, namlich in der flussigen Phase, weshalb fast die ganze Kolonie am Glasrand entlang wachst (Abb. 2). Die folgenden Zahlen, die die Große der auf festem Agar gewachsenen Kolonieflachen in Planimeterteilen angeben, wobei die in der flussigen Phase der Glasrandkolonien gewachsenen Anteile außer Betracht gelassen sind, zeigen das sehr deutlich.

	Glasrandkolonie	Freie Kolonie
Bact. prodigiosum	22	115
Bact. pyocyaneum	33	124
Bac. anthracoides	151	502
Sarcina lutea	38	157

Von diesem begreiflichen Verhalten der Bakterien macht Bac. mycoides eine Ausnahme. Seine Glasrandkolonien breiten sich fast ebenso schnell auf dem festen Agar wie in der Flussigkeitslamelle aus. Den Grund hierfur sehen wir in einer hoheren Wachstumsform des Bac. mycoides, nämlich der Fadenbildung, die sich sehr gut zur Überwindung des Nährbodenwiderstandes eignet[1]).

[1]) Auch Bact. radicicola, das in seiner saprophytischen Form diese Wachstumsart nicht besitzt, nimmt dieselbe an, wenn es ins Wurzelgewebe der Legu-

Da es den Bakterien in einer Glasrandkultur ermoglicht ist, sich außer auf dem Agar auch im flussigen Medium, das ihnen einen geringeren Widerstand entgegensetzt, auszubreiten, gelingt es mit Hilfe dieser Methode auch Agarkolonien, die ihr Wachstum bereits eingestellt haben, zu neuem Wachstum zu veranlassen. Wir legten ein dunnes Glasstabchen so auf die Agaroberflache, daß es mit dem einen Ende eine ausgewachsene Kolonie von Sarcina lutea oder Bacterium prodigiosum beruhrte. In verhaltnismaßig kurzer Zeit wurde dann das Glasstabchen von den Bakterien vollstandig umwachsen (Abb. 3).

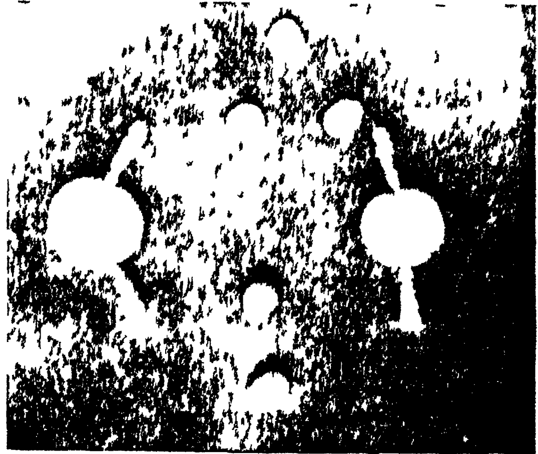


Abb. 3. Beschreibung im Text.

Wenn bei einer Glasrandkultur nach langerer Zeit das Glas (Objektträger) entfernt wird, dann breitet sich die Kolonie auf die nun freigewordene Flache nur sehr wenig und zogernd aus (Abb. 4). Das hat seinen Grund ebensowenig in irgendwelchen inneren Gesetzmäßigkeiten der Kolonie wie alle anderen bereits besprochenen Erscheinungen des Koloniewachstums. Vielmehr ist es auch hier wieder ein äußerer Einfluß, wie wir annehmen, die Austrocknung und Vergiftung des Nahrbodens durch die inzwischen herangewachsene Glasrandkultur selbst. Einen Beweis hierfur sehen wir u. a. darin, daß Bact. prodigiosum unter den geschilderten Verhaltnissen auf der freigewordenen Agarflache nicht rot, sondern weiß wachst, was auf eine Veränderung des Nährbodens hindeutet.

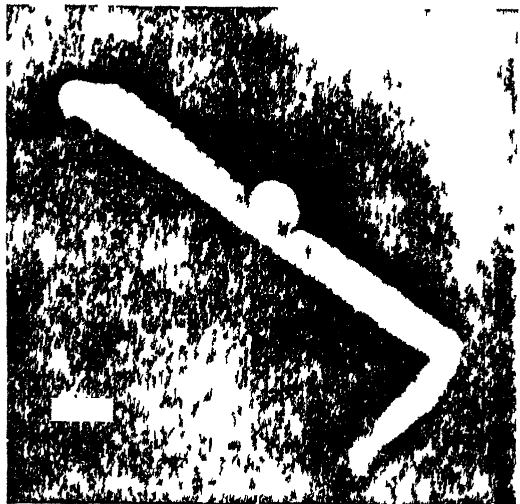


Abb. 4. Beschreibung im Text.

Am Schlusse dieses Kapitels soll noch auf eine praktische Bedeutung der Glasrandkultur hingewiesen

---

minosen eindringt. In einer fruheren Mitteilung (7) haben wir bereits die Vermutung geaußert, daß es unter den Pilzen mehr Pflanzenparasiten gibt als unter den Bakterien, weil der Pilz mit Hilfe seiner fadigen Hyphen die Zellulosemembran leichter durchdringen kann als Bakterien.

werden. Wenn es sich darum handelt, sehr langsam und schwierig anwachsende Bakterien in größeren Mengen schnell zu züchten, leistet die Methode der Glasrandkultur sehr gute Dienste. Wir konnten beobachten, daß einzelne Kolonien des Mycobacterium poikilothermorum Friedmann auf Glyzerin-Bouillon-Agar nach einer Woche noch keine bedeutende Größe erreicht hatten, während ein Objektträger auf dem Agar von den Bakterien schon in wenigen Tagen völlig umwachsen wurde.

Ferner möchte ich annehmen — allerdings unter ausdrücklicher Betonung, daß es sich dabei lediglich um eine Vermutung handelt —, daß bei manchen bakteriellen Erkrankungen des menschlichen und tierischen Organismus die geschilderten Gesetzmäßigkeiten ebenfalls zur Geltung kommen. Die Bedeutung einer mehr oder weniger reichlichen katarrhalischen Schleimabsonderung bei solchen Erkrankungen könnte man nämlich u. a. auch darin sehen, daß die Erreger leicht aus der festen Phase (Gewebe) in die flüssige (Sekret) eindringen, mit welcher sie dann aus dem infizierten Körper ausgeschieden werden.

Filtrierpapierkulturen.

Aus dem Verhalten der Glasrandkulturen haben wir geschlossen, daß sich die Bakterien im allgemeinen in dem Medium schneller ausbreiten, das ihnen den geringeren Widerstand entgegensetzt. Als weiteren Beweis für die Richtigkeit dieser Anschauung lassen sich noch Versuche anführen, bei denen wir gewöhnlichen Agarnährboden in ähnlicher Weise verändert haben wie bei der Glasrandkultur. Eine Scheibe Filtrierpapier, auf frischen Agar gelegt, hält die von diesem ausgepreßte Flüssigkeit kapillar fest, in der sich die Bakterien ebensogut wie am Glasrand und besser als auf dem Agar selbst ausbreiten können. Denn die chemische Beschaffenheit des Nährbodens ist auf diese Weise kaum, die physikalische dagegen grundlegend geändert worden. Der Widerstand, den der Agar der Verbreitung der Bakterien entgegensetzt, ist auf ein Mindestmaß herabgesetzt worden. Alle von uns geprüften Arten sind auf dem Papier sehr gut gewachsen. Sarcina lutea hat typische S-Kolonien gebildet. In ihrer Umgebung wurden weder makroskopisch noch mikroskopisch vereinzelte Zellen festgestellt. Das sich auch unter anderen Bedingungen schneller ausbreitende Bact. prodigiosum hat auf dem Papier keine für Agar typische S-Kolonien, sondern nur ganz vereinzelt sehr kleine Kolonien gebildet, die in einem ausgedehnten Bakterienschwarm lagen. Noch stärker hat sich Bact. pyocyaneum auf der Papieroberfläche ausgebreitet, ohne eine einzige typische Kolonie zu bilden. Bact. coli hat sich sogar mehrere Zentimeter von der Impfstelle bis auf den freien Agar ausgedehnt, wo dann am Papierrand die üblichen runden Kolonien entstanden sind. Genau so hat sich Bac. anthracoides verhalten, der überall auf dem Papier zu finden war, meistens in Form von Sporen, und rings um dasselbe herum einen Koloniesaum gebildet hatte[1]).

Es scheint also, daß besonders der Wassergehalt des Nährbodens, wenigstens bei den beweglichen Formen, für den Ausdehnungsumfang der Kolonie von wesentlicher Bedeutung ist. Davon konnten wir uns auch überzeugen durch Kulturversuche mit halbflüssigem Agar, bei dem der Widerstand

[1]) Ähnliche Erscheinungen hat auch S. Prát (10) bei Callothrix thermalis beobachten können.

gegen die Ausbreitung der Bakterien ebenfalls herabgesetzt ist. Bact. prodigiosum hat denn auch auf solchem 0,5proz. Agar Kolonien gebildet, deren Oberfläche 5mal so groß war wie diejenige der auf 1,5proz. Agar gewachsenen Kolonien. Außerdem war der Rand der ersteren nicht so glatt.

Die Methode, auf Filtrierpapier zu kultivieren, haben wir auch angewendet, um die bereits einmal gestreifte Frage nach dem Nährstofftransport in der Kolonie weiter zu klären. Kleine, sterile Papierstückchen wurden auf Bakterienkolonien aufgelegt, so, daß sie die freie Agarfläche nicht berührten. Auf das schnell feucht werdende Papier wurde dann entweder dieselbe oder auch eine andere Art geimpft. Mit dieser Versuchsanordnung sollte ermittelt werden, ob die Nährstoffe aus dem Agar durch die untere Kolonie und das Papier bis zu den darauf liegenden Bakterien befördert werden können. Von allen untersuchten Arten hat es nur die sehr anspruchslose Sarcina lutea zu einem gewissen kümmerlichen Wachstum auf den Papierstückchen gebracht, woraus wir schließen möchten, daß die in das Papier aufgestiegene Flüssigkeit sehr arm an Nährstoffen war, und deshalb auch die oberen Zellen der unter dem Papier befindlichen Kolonie nur sehr schlecht oder gar nicht ernährt werden.

Regenerationsversuche an Bakterienkolonien.

Obwohl niemand auf den Gedanken kommen wird, eine Bakterienkolonie als Zellgewebe zu betrachten, so ist es doch auch nicht möglich, in ihr lediglich einen Zellhaufen ohne jede Wechselseitigkeitsbeziehungen zu sehen. Wir haben uns gefragt, ob bei einer Bakterienkolonie bereits Regenerationserscheinungen einfachster Art feststellbar sind, d. h. ob das Koloniewachstum nur durch äußere Einflüsse geregelt wird, oder ob sich auch innere Einflüsse geltend machen, die dann durch Regenerations- oder Korrelationserscheinungen zum Vorschein kommen müßten, wenn künstliche Eingriffe in die Gesetzmäßigkeiten des Koloniewachstums vorgenommen würden. So besteht nach Bail (2) in flüssigen Nährböden eine gewisse maximale Grenze der Zellvermehrung, die nicht überschritten werden kann. Wird diese größtmögliche Individuenzahl, nachdem sie erreicht ist, künstlich vermindert, dann tritt erneut Zellvermehrung ein, bis die ursprüngliche Grenze, die sogenannte M-Konzentration, wieder erreicht ist, die darum also nicht mit einer Erschöpfung oder Vergiftung des Nährbodens erklärt werden kann. Zur Beantwortung der Frage, ob solche Gesetzmäßigkeiten auch in der Bakterienkolonie vorherrschen, haben wir folgende Versuche durchgeführt:

Der mittlere Teil einer ausgewachsenen Kolonie von Sarcina lutea wurde mit sterilisiertem Skalpel bis auf den Agar entfernt. Das weitere Verhalten einer so veränderten Kolonie wurde dann mit demjenigen einer unveränderten verglichen. Weder bei diesen noch bei anderen Versuchen, bei denen ebenfalls Teile der Kolonien entfernt oder Größe und Form derselben künstlich beeinflußt wurden, hat sich irgendein Anhalt dafür ergeben, daß es auch in der Bakterienkolonie eine M-Konzentration gibt oder Korrelations- oder Regenerationserscheinungen auslösbar sind.

Es zeigt sich also immer wieder, daß die Größe der Bakterienkolonie im wesentlichen vom Widerstand des Nährbodens und der allmählich einsetzenden Erschöpfung und Vergiftung desselben mit Stoffwechselprodukten

bestimmt wird Mit einer Erschöpfung und Vergiftung des Nährbodens lassen sich z. B. Erscheinungen wie die Zonenbildung an Kolonien von Bact. vulgare und Bac. mycoides (Abb. 5) erklären. Einzelne widerstandsfähigere Zellen vermögen die Zone des erschöpften und vergifteten Agars am Rande der ausgewachsenen Kolonie zu durchdringen (bei Bac. mycoides durch Fadenbildung begünstigt!) und jenseits dieser Zone sich wieder in normaler Weise zu einem Kranz von Kolonien zu vermehren.



Abb. 5. Beschreibung im Text

Auf eine kurze Formel gebracht, stellen sich uns die erwähnten Beziehungen äußerer Faktoren zum Koloniewachstum wie folgt dar:

$$E = K\left(\frac{1}{W + V}\right)$$

Darin bedeutet E die Expansivität der Kolonie, W den Widerstand des Nährbodens und V die Vergiftung oder Erschöpfung desselben.

Mischkulturen.

Über Biologie und innere Struktur der Bakterienkolonie lassen sich an Mischkulturen einige besonders schöne Beobachtungen anstellen. Es ist die Frage, wie sich zwei verschiedene Arten verhalten, wenn sie auf den gleichen Lebensraum angewiesen sind. Mit der Methode, die wir zunächst anwendeten, und die darin besteht, daß wir ein kleines Tröpfchen einer gemischten Aufschwemmung zweier Arten in steriler physiologischer Kochsalzlösung auf die Agarplatte impften, erhielten wir meistens Kolonien, die aus einem zentralen Kern der einen Art und einem darumliegenden Ring der anderen Art bestanden. Die äußere Zone enthielt mikroskopisch nahezu Reinkulturen. Im einzelnen ergab sich folgendes:

Sarcina lutea-Bact. coli (Abb. 6). In der Mitte eine gelbe Kolonie von Sarcina, umgeben von einem weißen Ring des Bact. coli.

Sarcina lutea-Bact. prodigiosum. Sarcina bleibt in der Mitte. Bact. prodigiosum bildet einen roten Ring.

Bact. prodigiosum-Bact. pyocyaneum (Abb. 7). Hier bleibt Bact. prodigiosum in der Mitte, während die äußere Zone der Kolonie von Bact. pyocyaneum grün gefärbt ist. Auch in Misch-

kultur mit Bac. mycoides bekommt Bact. prodigiosum die Mitte der Kolonie zugewiesen (Abb. 8).

Im Gegensatz zu diesen Mischkulturen, in denen sich die beiden Komponenten in ihrem Ausbreitungsvermogen und ihrer Widerstandsfahigkeit gegenuber antagonistischen Kraften nicht sehr stark unterscheiden, stehen jene, in denen die eine Art von der anderen mehr oder weniger ganz unter-

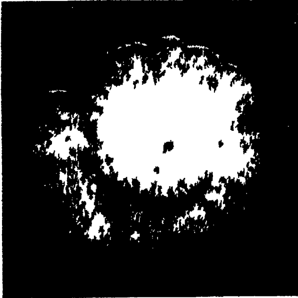


Abb. 6.



Abb. 7.

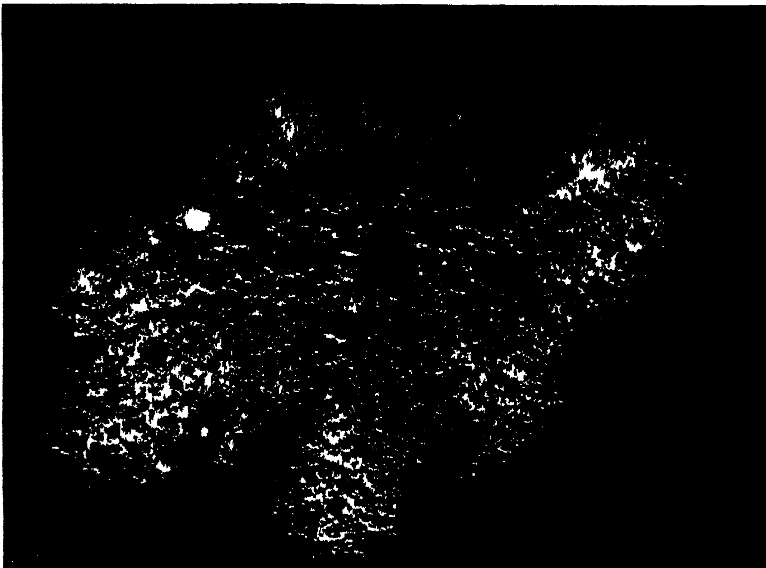


Abb. 8. Beschreibung im Text.

druckt wird. Hierher gehoren beispielsweise Mischkulturen von Sarcina lutea mit Bac. anthracoides oder mit Bact. pyocyaneum, in denen die Sarcina nahezu vollständig unterdruckt wird. Noch etwas anders liegen die Verhaltnisse, wenn sich beide Komponenten ungefahr gleich stark entwickeln, wie es in Mischkulturen von Bac. anthracoides mit Bact. pyocyaneum der Fall ist.

Es entstehen dann Kolonien, an denen ebenfalls keine Aufteilung des Raumes in eine äußere und innere Zone zu bemerken ist, die vielmehr teils den Eindruck von Reinkulturen der einen oder der anderen Art oder von Mischkulturen beider Arten machen.

Abb. 9. Bact. prodigiosum (große, dunkle Kolonien) und Bact. pyocyaneum (links unten), Bac. anthracoides (rechts oben), Bact. coli (rechts unten), Sarcina lutea (links oben).

Bei der Erforschung der Biologie der Mischkulturen benutzten wir auch wieder die Methode der Glasrandkulturen. Auf die eine Seite eines auf dem Agar liegenden Objektträgers impften wir Bact. prodigiosum und auf die andere Sarcina lutea oder Bac. anthracoides. Bei ihrer schnellen Ausbreitung am Glasrand entlang begegneten sich dann beide Arten sehr bald, worauf sich Bact. prodigiosum stets über der anderen Art in der flüssigen Phase weiter ausbreitete, ohne auf dem Agar neben der fremden Art zu wachsen. Eine befriedigende Erklärung für dieses sonderbare Verhalten können wir z. Z. noch nicht geben.



Abb. 10. Sarcina lutea (Mitte der Kolonien). Außen Bact. pyocyaneum (links), Bac. anthracoides (unten), Bact. prodigiosum (oben), Sarcina lutea (rechts, beide Kolonien verschmelzend).

Des weiteren haben wir untersucht, wie sich zwei verschiedene Arten verhalten, wenn ihre zunächst getrennt liegenden Kolonien miteinander verschmelzen (Abb. 9 u. 10). Wir konnten immer beobachten, daß die nur langsam sich ausbreitenden Kolonien von Sarcina lutea sowohl von denen des Bact. prodigiosum als auch von denen des Bact. coli, Bact. pyocyaneum und Bac. anthracoides umwachsen wur-

den, so daß um die Sarcina-Kolonie herum ein Ring der anderen Art entstand. Dagegen ließ sich Bact. pyocyaneum von keinem anderen Bakterium umwachsen In die Kolonien von Bact. coli vermochte nur Bact. pyocyaneum einzudringen, ohne sie ringformig zu umwachsen wie die Kolonien von Bact. prodigiosum. Bac anthracoides war imstande, die Kolonien von Sarcina lutea und Bact. coli zu umwachsen, nicht aber die von Bact. pyocyaneum und Bact. prodigiosum. Auch hier ist es uns nicht moglich, fur die Erscheinungen in allen Einzelheiten eine ausreichende Erklarung zu geben.



Abb 11 Beschreibung im Text.

Ganz anders als es eben geschildert wurde, verhalten sich zwei Kolonien der gleichen Art, wenn sie miteinander in Beruhrung kommen. Wir haben absichtlich immer zwei Kolonien verschiedenen Alters, die nacheinander entstanden waren, zu den Versuchen benutzt und konnten stets feststellen, daß beide mehr oder weniger vollkommen miteinander verschmolzen, so daß wieder eine einzige runde Kolonie entstand. Nur bei Sarcina lutea blieb die jungere Kolonie in der alteren in Gestalt eines keilformigen Sektors langere Zeit erhalten. Durch Ausmessung ließ sich feststellen. daß die in einer großeren eingeschlossene kleine Kolonie im Wachstum stark behindert war im Gegensatz zu einer gleich alten, aber frei liegenden Kolonie (Abb. 11).



Abb. 12a Coralina virgata.

Die mikroskopische Struktur der Mischkulturen haben wir an transversalen Schnitten nach der Methode von Legroux und Magrou (9) untersucht. Die herausgeschnittenen Teile wurden in flussigen aber nicht zu heißen Agar eingebettet, nach Němecs Methode[1]) fixiert und weiter wie histologische Schnitte behandelt[2]). Die gefarbten Praparate zeigten eine sehr verschieden-

[1]) 1% Chromsaure + 8% Formalin

[2]) Diese Arbeiten hat Herr Dr. P. F. Milovidov ausgefuhrt, der mit der Methode besonders eng vertraut ist.

artige Zusammensetzung der Mischkolonien. Zum Teil lagen die einzelnen Arten in Schichten und Inseln getrennt und zum Teil waren sie auch ziemlich weitgehend miteinander vermengt. Aus den vorliegenden Beobachtungen ließen sich keine allgemeingultigen Schlusse ziehen.

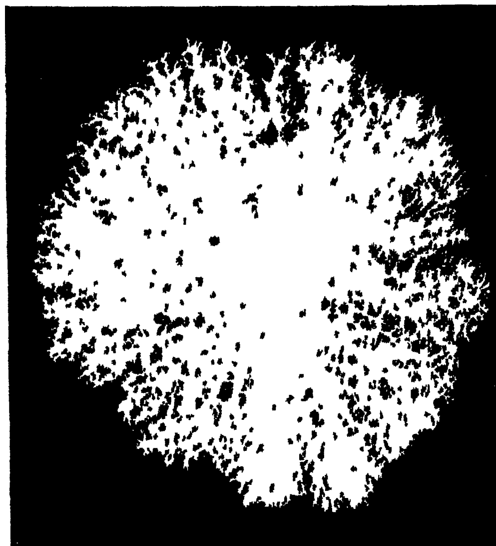


Abb. 12 b. Bac. mycoides.



Abb. 12c. Mycobacterium smegmatis.

Die Bakterienkolonie als Thallusnachbildung.

Wie sehr, zunachst rein außerlich, Bakterienkolonien, vor allem die R-Formen, den Eindruck eines Thallus erwecken konnen, zeigt ein Vergleich der Kolonieformen von Bac. mycoides und Mycobacterium smegmatis mit einem Thallus der Seealge Coralina virgata (Abb. 12). Die außerliche Ahnlichkeit dieser drei Kolonien hinsichtlich der thallusartigen Form ist unbestreitbar. Diese Ähnlichkeit geht aber sogar noch weiter. An transversalen Schnitten durch Kolonien von Bakterien (Mycobacterium pellegrini) wie auch beispielsweise an solchen der Hefe Saccharomyces cerevisiae[1]) konnen namlich oft Zellen im Agar unter der Kolonie beobachtet werden, die auffällig lang und mitunter zu Faden aneinandergereiht sind und lebhaft an die Rhizoiden eines Thallus erinnern. Naturlich ist auch hier der Vergleich rein außerlich. Denn uber Ursachen und Zweckmäßigkeit dieses Zelldimorphismus in Bakterienkolonien ist uns nichts bekannt. Wenn sie auch nicht als regellose Zellhaufen betrachtet werden konnen, so beweisen doch der Mangel an Korrelations- sowie Regenerationserscheinungen und die Ernährungsverhältnisse in den

[1]) Die Struktur der Saccharomyces-Kolonien hat bei uns M. Pisova untersucht.

Kolonien, daß diese nichts anderes sind als eben Zellkolonien, und daß sie die höhere Form des Thallus lediglich nachbilden.

Zusammenfassung.

Untersuchungen über die Biologie der Bakterienkolonie an sog. Glasrandkulturen, an Filtrierpapierkulturen und Mischkulturen, sowie in Gestalt von Regenerationsversuchen und morphologischen Studien über Habitus und mikroskopischen Bau der Kolonie haben zu folgenden Ergebnissen geführt:

1. Größe und Form der Bakterienkolonie werden im wesentlichen nicht von Kräften bestimmt, die dieser selbst innewohnen, sondern von äußeren Faktoren.

2. Zu den wichtigsten dieser Faktoren gehören der Widerstand des Nährbodens und seine Erschöpfung bzw. Vergiftung.

3. In der Bakterienkolonie gibt es keine Ernährung der Zellen auf Distanz, wie etwa im Kallusgewebe höherer Pflanzen.

4. Regenerations- und Korrelationserscheinungen sind an Bakterienkolonien nicht wahrnehmbar.

5. Mischkulturen verhalten sich je nach ihrer Zusammensetzung verschieden. Die einzelnen Komponenten können in einer Kolonie räumlich getrennt zur Entwicklung kommen. Maßgeblich sind die Ausbreitungsgeschwindigkeit und zuweilen auch antagonistische Wirkungen der einzelnen Arten.

6. Gewisse Bakterienkolonien ähneln sehr einem Thallus. Jedoch besteht diese Ähnlichkeit nur äußerlich.

7. Die Bakterienkolonie bildet eine Zellgemeinschaft eigener Art. Sie kann weder als regelloser Zellhaufen noch als ein Zellverband höherer Ordnung betrachtet werden.

Literaturverzeichnis.

1. Arkwright, J. A., The source and characteristics of certain cultures sensitive to bacteriophage. (The British Journ. of Exp. Pathology 1924.) — 2. Bail, O., O možnosti a zakladech pokusné nauky populační (Čas. Čes. Lék. 1927.) — 3. Goebel, K., Organographie der Pflanzen. II. (Jena 1931.) — 4. Hadley, P., The dissociative aspects of bacterial behaviour (Chicago 1928.) — 5. Hirsch, J., Die Bakterienpopulation als biologische Einheit. (Klin. Wochenschr. 1933.) — 6. Holman, W. L., Bacterial associations (Chicago 1928.) — 7. Korinek, J., Au sujet des aglutinines spécifiques chez les végétaux (Publ. Facult. Sc. Univ. Charles. Prague 1924.) — 8. Korinek, J., La dissociation chez les Mycobacteria. (Preslia. Prague 1932.) — 9. Legroux, R. et Magrou, J., Etat organisé des colonies bactériennes (Ann. Inst. Pasteur 1921.) — 10. Prat, S., Studie o biolithogenesi. (Praha 1929.) — 11. Vanni, S., Recherches de variations sur les germes cultivés en association avec le bacille tuberculeux. (Boll. di Microbiol. Milano 1934.) — 12. Wikullil, L., Wachstumsverhältnisse in Bakterienpopulationen. (Zentralbl. f. Bakt., I. Orig. Bd. 126. 1932.) — 13. Winslow, C. E. A., The rise and fall of bacterial population. (Jordana. Falk. Chicago 1928.)

Referate.

Allgemeines und Methodisches.

Linderstrom, K., and Holter, H., Studies on enzymatic histochemistry. V. A micro-method for the estimation of sugars. (Comptes rendus Laboratoire Carlsberg. Vol. 19. 1931—1933. Nr. 14.)

Zur mikroanalytischen Bestimmung der Saccharase-, Maltase- und Amylase-Aktivität wurde die bei der enzymatischen Spaltung frei werdende Hexosemenge (Glukose) ermittelt. Der Zucker wurde in alkalischer Lösung (Natriumkarbonat-Bikarbonat-Puffer vom ph-Wert 10,6) durch Jod zu Glukonsäure oxydiert und der Jodüberschuß in saurer Lösung durch Natriumthiosulfat zurücktitriert. Für die Zwecke der Mikroanalyse waren besondere Vorkehrungen erforderlich, die vor allem peinlichste Sauberkeit der Gefäße zum Ziel hatten und ferner verhindern sollten, daß kein Jod während der Titration durch Verdampfung verlorenging. Wie im einzelnen verfahren wurde, möge in der Originalarbeit nachgelesen werden.

Engel (Berlin).

Linderstrom-Lang, K., and Holter, H., Studies on enzymatic histo-chemistry. VI. A micro-method for the estimation of ammonia. (Compt. Rend. Laboratoire Carlsberg. Vol. 19. 1931—1933. Nr. 20.)

Als weitere der in der I. Mitteilung (Compt. Rend. Laboratoire Carlsberg. Vol. 19. Nr. 4) angekündigten Mikromethoden bringen Verff. in vorliegender Arbeit ein Verfahren zur Bestimmung außerordentlich kleiner Mengen von Ammoniak. Als Beispiel dient die Spaltung von Harnstoff durch Urease. Enzymatische Umsetzung, Destillation des entstandenen NH_3 sowie Titration desselben finden gemeinsam in einer kleinen Kapillare statt, die nicht länger als 25 mm ist und einen inneren Durchmesser von 3,8 mm hat. Mengen bis zu $1{,}4 \times 10^{-5}$ mg N können noch mit großer Genauigkeit erfaßt werden, und die größte Menge soll zweckmäßig nicht mehr als $2{,}8 \times 10^{-2}$ mg N betragen. Engel (Berlin).

Glick, D., Studies on enzymatic histochemistry VIII. A micro method for the determination of lipolytic enzyme activity. (Comptes rendus Laboratoire Carlsberg. Vol. 20. 1934. Nr. 5.)

Das Prinzip der Methode ist folgendes: Dem zu spaltenden Substrat (Methylbutyrat) wird ein alkalischer Puffer zugesetzt, der im optimalen Reaktionsbereich der enzymatischen Umsetzung wirksam ist. Als solcher eignete sich eine Mischung von Glykokoll und NaOH bestimmter Konzentration (ph 8,7). Nach Zugabe des fettspaltenden Enzyms bildet sich freie Buttersäure, die einen Teil des NaOH neutralisiert, ohne daß dabei der ph-Wert wesentlich absinkt. Die Umsetzung wird nach einer bestimmten Zeit durch Zusatz von Phenol sistiert und der übriggebliebene Alkalirest mit HCl und Bromthymolblau als Indikator auf den ph-Wert 6,5 titriert. Aus der Differenz des so erhaltenen Wertes und der Anfangstitration läßt sich die Menge der entstandenen Buttersäure und damit die Enzymaktivität berechnen. In welcher Weise diese Methode den besonderen Anforderungen der Mikroanalyse gerecht wird, möge im Original nachgelesen werden.

Engel (Berlin).

Gay, F. P. und **Clark, A. R.**, The differentiation of living from dead bacteria by staining reactions. (Journ. of Bacter. Vol. 27. 1934. p. 175—189.)

Eine eingehende Nachprufung der von Proca-Kayser angegebenen Färbemethode zur Unterscheidung lebender und toter Bakterienzellen ergab, daß diese Methode, wenn die Bedingungen streng eingehalten werden, durchaus zuverlässig ist. Es lassen sich einwandfrei durch chemische und physikalische Einwirkungen abgetotete Bakterien nachweisen. Abgetötete Bakteriensporen werden im Gegensatz zu den rot gefärbten toten Bakterienzellen blau gefärbt. Der verschiedene Ausfall der Färbung bei lebenden und toten Zellen ist wahrscheinlich auf Veränderungen der Permeabilität und der reaktiven Gruppen zurückzuführen, es handelt sich bestimmt nicht um eine einfache Veränderung der Reaktion der Bakterienzelle. Ein einwandfreier Nachweis dafur, daß bei der Phagocytose eine Abtötung der Zellen stattfindet, ist weder mit der Proca-Kayser-Methode noch mit der von Bordet und Mesnil zu erbringen. Die bei der Phagocytose bei der Neutralrotfärbung auftretenden Erscheinungen sind in erster Linie auf Veränderungen der Reaktion der Vakuolen zurückzuführen.

Richter (Kiel).

Hall, H. H. und **Lothrop, R. E.**, The use of clarified honey in culture media. (Journ. of Bact. Vol. 27. 1934. p. 349—355.)

Die Verwendung von Honig-Agar (1 Teil Honig + 2 Teile 3proz. Nähragar, $p_H = 6{,}8$—7) für die Züchtung und Identifizierung von bestimmten Hefen hat in den letzten Jahren mehr und mehr zugenommen. Durch seinen hohen Gehalt an Zucker und gleichzeitig an Mineralsalzen ist dieser Nährboden anderen Nährböden überlegen. Als Nachteil mußte bisher angesehen werden, daß bei der Mischung beider Bestandteile eine Ausflockung eintrat, die die Herstellung klarer Nährböden unmöglich machte. Lochhead und Farrell hatten bereits 1931 nachgewiesen, daß durch Behandlung mit Fullererde die das Hefewachstum aktivierenden Bestandteile des Honigs nicht entfernt werden. Von dieser Tatsache ausgehend gelang es Verff., eine Methode zur Klärung des Honigs auszuarbeiten, die die Eignung zur Herstellung von Honignährböden nicht beeinträchtigt. 750 g Honig werden mit 600 ccm Aqua dest. gemischt und im Wasserbad auf 50° erwärmt, dann werden 200 ccm einer 5proz. Aufschwemmung von Bentonit (Klärerde) hinzugefügt und die Mischung 15 Min. bei 50° gehalten. Nach Filtration wird im Vakuum bei niederer Temperatur auf die ursprüngliche Konzentration des Honigs eingedampft. Der geklärte Honig wird dann in üblicher Weise verwendet. Verff. glauben, daß das Verfahren auch für die Klärung anderer Nährböden verwendet werden kann. Richter (Kiel).

v. Angerer, K., Über die Verwendung von ein- und zweifarbigen Kontrastfiltern in der bakteriologischen Mikroskopie. (Archiv f. Hyg. u. Bakt. Bd. 110. 1933. S. 33—37.)

Es werden Filterlösungen angegeben, die für ein oder für zwei Farben durchlässig sind und die Verstärkung der gesuchten Objekte in reversibler Weise gestatten. Der Zweck dieser Filterlösungen ist der, spärlich vorhandene Objekte besonders auffällig zu machen oder blaß gefärbte und schwer erkennbare Objekte kontrastreicher hervortreten zu lassen.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Nielsen, N., A method for determining the velocity of sedimentation of yeast. (Comptes rendus Labor. Carlsberg. Vol. 19. 1931—1933. Nr. 17.)

Die Hefesuspension kam in eine Bürette, in der die Zellen sedimentieren konnten. Nach 4 Std. wurden die unteren 12,5 ccm abgelassen und in 10 ccm davon wurde der Trockensubstanzgehalt der abzentrifugierten Hefezellen bestimmt. Der so ermittelte Wert b wurde mit dem Trockensubstanzgehalt a der in 10 ccm der Original-Hefesuspension enthaltenen Hefemenge verglichen. Der Quotient b/a diente als Maß der Sedimentiergeschwindigkeit. Mit dieser Methode konnte nachgewiesen werden, daß es in einer Hefesuspension schneller und langsamer zu Boden sinkende Hefezellen gibt. Die ersten zeichneten sich durch höheren N-Gehalt aus.

Engel (Berlin).

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virus-Untersuchungen.

Kingma Boltjes, T. Y., Onderzoekingen over nitrificeerende Bacterien. (Delft. 1934. 191 S., 41 Abb.) [Holländ. Dissert. m. engl. Zusfassg.]

Nach kritischer Besprechung der bisher auf diesem Gebiete vorliegenden Untersuchungen berichtet Verf. über eigene Arbeitsergebnisse. Schon bei der Anreicherung der nitrifizierenden Bakterien in großen Erlenmeyer-Kolben mit flacher Nährlösungsschicht boten sich gewisse Schwierigkeiten. Für Nitritbildner erwies sich die Nährlösung Winogradskys nicht als optimal, wenn destill. Wasser und reine Salze verwendet wurden. Spektralanalytische und ernährungsphysiologische Untersuchungen ergaben dann, daß Ca für ein gutes Gedeihen der Bakterien unerläßlich ist. Bei der Reinzucht mit Hilfe von nach besonderem Verfahren hergestellten Kieselgel-Platten wurden die Bakterien in dem noch nicht erstarrten Sol aufgeschwemmt. Aus den so angereicherten Kulturen von Nitritbildnern wurden Reinkulturen als Einzellkulturen mit dem Mikromanipulator gewonnen. Nitratbildner-Reinkulturen ließen sich ohne Zuhilfenahme des Mikromanipulators durch Plattenguß gewinnen. Die aus den verschiedenen Böden gezüchteten Stämme gehören zur Gattung Nitrosomonas bzw. Nitrobacter. Die von Winogradsky aufgestellte Gattung Nitrosocystis betrachtet Verf. als eine andere Entwicklungsform von Nitrosomonas. Er hält es auch für wahrscheinlich, daß die von Winogradsky außer Nitrobacter beschriebenen Nitratbildner nicht nitrifizieren, sondern mit Bac. oligocarbophilus nahe verwandt oder identisch sind.

Die allgemein verbreitete Ansicht, daß organische Substanzen für die nitrifizierenden Bakterien immer schädlich oder indifferent seien, teilt Verf. nicht. Nährstoff-Heyden übte sogar einen deutlich günstigen Einfluß auf die Entwicklung der Nitritbildner aus. Das bessere Gedeihen derselben in Nährböden, die nicht mit destilliertem sondern mit Leitungswasser hergestellt wurden, führt Verf. auf darin enthaltene Spuren organischer Substanz zurück. Selbst in Nährmedien mit 4% Glukose gelang Verf. die ungehemmte Nitrifikation und Vermehrung der Bakterien. Die Schädigung trat erst ein, wenn die anorganische Energiequelle verbraucht war. Diese ist ebensowenig wie die Kohlensäure durch organische Stoffe ersetzbar. Der hemmende Einfluß von Pepton ist auf darin enthaltene freie Amino-

säuren zurückzuführen, die ebenso wie einige andere schädigende organische Stoffe offenbar das Atmungsfermentsystem blockieren.

Als häufiger Begleiter nitrifizierender Bakterien in Anreicherungskulturen wurde Hyphomicrobium vulgare Stutzer et Hartleb näher untersucht. Dieser eigenartige Mikroorganismus vermag ebenso wie Bac. oligocarbophilus in den rein mineralischen Nährböden zu gedeihen, weil er so anspruchslos ist, sich mit den in der Luft bewohnter Räume vorhandenen Verunreinigungen organischer Natur zu begnügen.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Orla-Jensen, S., Hitherto unknown activators for the growth of lactic acid bacteria. (Journ. of the Society of Chemical Industry. Vol. 52. 1933. p. 374—379.)

Zucker sind für Milchsäurebakterien in den ersten Tagen der Bebrütung praktisch erst dann vergärbar, wenn sie bei der Sterilisation mit Leitungswasser infolge der geringfügigen Alkaliwirkung bis zu einem gewissen Grade bereits aufgeschlossen sind. Diese anfängliche Hemmung verliert sich, wenn als Stickstoffquelle Hefeextrakt verwendet wird. Die aktivierende Wirkung des Hefeextrakts kann verglichen werden mit der gekoppelten Wirkung von Hormonen und Vitaminen. Von Wichtigkeit ist, daß bei der gemeinsamen Sterilisierung (von Zucker und den übrigen Stoffen im selben Arbeitsgang) Methylglyoxal gebildet wird. Dieses übt aber als solches keinen aktivierenden Einfluß aus, sondern nur nach Zusammensterilisierung mit autolysierter Hefe, also muß die wirksame Substanz eine Verbindung von Methylglyoxal mit irgendwelchen N-haltigen Stoffen sein. Diese Tatsache tritt um so mehr hervor, wenn man bei Versuchen mit Milchsäurelangstäbchen schwieriger angreifbare C-Quellen, wie z. B. Rohrzucker und Inulin, anwendet. Bei Bact. acidophilum ergab sich eine starke Vergärung erst dann, wenn der Rohrzucker zusammen mit Hefeextrakt + Methylglyoxal erhitzt worden war. Da nach den modernen Theorien die Oxydo-Reduktion ein wesentlicher Bestandteil der Gärungsvorgänge ist, kann man leicht begreifen, daß Methylglyoxal als gleichzeitiger Sauerstoff- und Wasserstoffakzeptor ein Katalysator für die Milchsäuregärung ist. Da von anderen Aldehyden Furfuraldehyd ähnliche Ergebnisse zeitigte, wurden auch Pentosen in die Untersuchung einbezogen. Es zeigte sich, daß Arabinose und Xylose ähnliche Wirkung hatten wie Methylglyoxal. Dies läßt vermuten, daß die aktivierende Substanz Beziehungen hat zur Cozymase; denn Euler und Myrbäck haben in der Hefecozymase das Vorhandensein von Pentose nachgewiesen.

K. J. Demeter (Weihenstephan-München).

Yamaha, G. und Abe, S., Weiteres über den isoelektrischen Punkt bei Bakterien. (Science Reports Tokyo Bunrika Daigaku. Section B. Vol. 1. 1934. p. 221.)

Folgende Bakterien wurden untersucht: Staphylococcus aureus, Sarcina lutea, Bacillus pyocyaneus, Bac. pseudodiphteriae, Diplococcus gonorrhoae, Bac. subtilis, Bac. anthracis und Bac. proteus. Alle besaßen mindestens einen isoelektrischen Punkt und zwar zwischen pH 2—4. Die nach der Flockungs- und nach der Kataphoresemethode erhaltenen Ergebnisse stimmten nicht immer ganz überein. Das Flockungsmaximum war meistens etwas weniger sauer als der Umladungspunkt, vermutlich infolge der oberflächlichen Ladung der Bakterienzelle. Engel (Berlin).

Hama, T., Studien über eine neue Rhodospirillumart aus Yumoto bei Nikko. (Journ. of Science Hiroshima Univ. Ser. B, Botany. Vol. 1. 1930—1933. p. 135.)

In den warmen, H_2S-haltigen Quellen von Yumoto wurde eine neue Rhodospirillumart mit folgenden Eigenschaften gefunden: Rechtsläufige Schraube; Dicke 1—1,2 μ, Länge 7—250 μ; an beiden Enden, mitunter auch an der Seite mit Geißelzöpfen versehen; Flexibilität vorhanden; in älteren Kulturen manchmal verzweigte Formen, sowie Individuen mit Plasmaschwellungen; als Reservestoff ließ sich Volutin nachweisen; Vermehrung durch Querteilung; Zellen leicht plasmolysierbar, gramnegativ und fettarm. Da die Kulturen nicht ganz rein waren, ließ sich über die physiologischen Eigenschaften des Spirillums nichts Sicheres aussagen. Es wuchs am besten unter Ausschluß des Luftsauerstoffs. Im Dunkeln fand keine Entwicklung statt. Das Temperaturoptimum betrug etwa 26° C. Da die Reinkultur nicht gelang, konnte nicht entschieden werden, ob das Spirillum zum autotrophen Leben befähigt ist. Engel (Berlin).

Hama, T., Nine species belonging to the order Thiobacteriales Buchanan, found in Hiroshima. (Journ. of Science Hiroshima University. Ser. B, Botany. Vol. 1. 1930—1933. p. 157.)

Obgleich ihm die Reinkultur noch nicht gelang, glaubt Verf. folgende Schwefelbakterien beschreiben zu dürfen: Thiospirillum crassum Hama nov. sp., Thiosp. coccineum Hama nov. sp., Chromatium sphaeroides Hama nov. sp., Chromatium minus Winogradsky, Chromatium gracile Strezeszewski, Thiospira propera Hama nov. sp., Rhodospirillum gracile Hama nov. sp., Beggiatoa alba Trevisan und Begg. arachnoidea Rabenhorst. Auch die Fundorte werden beschrieben. Engel (Berlin).

Abe, S., On the syngamy of some myxomycetes. (Science Reports Tokyo Bunrika Daigaku. Section B. Vol. 1. 1934. p. 193.)

Verf. beobachtete bei einer Reihe von Schleimpilzen (Fulgio septica, Erionema aureum, Didymium nigripes, Physarum crateriforme und Stemonitis fusca) folgenden Sexualvorgang: die Sporen entlassen geschlechtlich differenzierte Schwärmer, Planogameten. Zwei morphologisch völlig gleiche Planogameten vereinigen sich darauf zur Planozygote, wobei Kernverschmelzung stattfindet. Die Planozygote wirft bald ihre Geißel ab und wird amöboid. Viele solcher amöboider Zygoten vereinigen sich sodann zum Plasmodium. Die Kerne des Plasmodiums sind demnach diploid. Bei den kopulierenden Schwärmern handelte es sich um Anisogameten, wie einmal die Art der Zellverschmelzung zeigte (Konjugation) und wie sich weiter aus dem Verhalten gegenüber bestimmten Farbstoffen und Ionen ergab. Die weiblichen Gameten waren positiv geladen und besaßen ein kleineres Oxydations-Reduktionspotential als die negativ geladenen männlichen Schwärmer. Engel (Berlin).

Kostytschev, S., and **Berg, V.**, Results of laboratory work tending to ascertain the conditions of the experimental factory organisation of biochemical production of citric acid. (Bull. of the State Inst. of Agric. Microbiol. USSR. Vol. 5. 1933. p. 8—27.) [Russ. m. engl. Zusfassg.]

Für den Umfang der Zitronensäurebildung durch Aspergillus niger sind die Kulturbedingungen von wesentlicher Bedeutung. Der Pilz wurde nach dem Verfahren von Kostytschev auf Nährlösung herangezüchtet und dann auf eine reine Zuckerlösung übertragen. Die größte Ausbeute an Zitronensäure wurde erhalten, wenn der Pilz 2 Tage auf der Nährlösung verblieb und 4 Tage auf der Zuckerlösung, deren Konzentration 20%, und deren Schichtdicke 1 cm betragen soll. Unter diesen Bedingungen werden bis 55% des für die Umsetzung bestimmten Zuckers in Zitronensäure verwandelt. Bei einer 8—9 tägigen anstatt 4 tägigen Fermentationsdauer können auch 40 proz. Zuckerlösungen verwandt werden. Die Ausbeute beträgt dann bis 50%. Bortels (Berlin-Dahlem).

Schwartz, W. und **Lang, H.**, Untersuchungen über die Zitronensäuregärung bei Aspergillus niger. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 5. 1934. S. 387—401.)

Züchtung von Aspergillus niger auf Zitronen führt zu einer starken Abnahme des Vermögens der Zitronensäurebildung, das wieder durch Kultur auf Gelatine gesteigert werden kann. Durch Zusatz geringer Mengen von Gelatine zur Nährlösung (0,1%) kann eine kräftige und konstante Zitronensäurebildung erzielt und, bei Verwendung junger Sporen zur Impfung (bei Impfung mit sehr alten Sporen sinkt die Zitronensäurebildung), aufrechterhalten werden. Zusatz von Mineralsäure verhindert den sonst ebenfalls durch Gelatinezusatz gesteigerten Abbau der Zitronensäure. Auf angewendeten Zucker beträgt die Ausbeute an Zitronensäure so 40—45%.

Zusatz von Arsenverbindungen begünstigte die Zitronensäurebildung in einigen Fällen unwesentlich, Chloroformzusatz wirkte ungünstig, ebenso Kaliumcyanid, das indessen hauptsächlich durch Verzögerung der Entwicklung schlechte Zitronensäureausbeuten ergab.

Zur Trennung von Zitronen- und Oxalsäure auf Grund der verschiedenen Löslichkeit ihrer Kalksalze wird das analytische Verfahren exakt ausgearbeitet.

Rippel (Göttingen).

Berg, V., Ascertaining of the optimum medium for the cultivation of the activ Aspergillus niger, and means of increasing acid formation in little active races of the fungus. (Bull. of the State Inst. of Agric. Microbiol. USSR. Vol. 5. 1933. p. 28—36.) [Russ. m. engl. Zusfassg.]

Von den sehr vielen untersuchten natürlichen Nährböden erwies sich Mostagar als der geeignetste zur Züchtung von Aspergillus niger-Stämmen, die zur Gewinnung von Zitronensäure Verwendung finden sollen. Die Fähigkeit zur Zitronensäurebildung wird auf diesen Nährböden bei schwach wirksamen Rassen gestärkt und bleibt dann konstant, besonders wenn regelmäßig in Abständen von etwa 5 Tagen übergeimpft wird.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Ledeboer, M. S. J., Physiologische onderzoekingen over Ceratostomella ulmi (Schwarz) Buisman. (Baarn. 1934. 95 S.) [Holländ. Dissert. m. deutsch. Zusfassg.]

Die physiologischen Untersuchungen an dem Erreger des bekannten Ulmensterbens wurden vornehmlich in synthetischen Nährlösungen durchgeführt. Der Pilz wuchs schon gut bei 8½° C, am besten bei 25° C. Die Coremienbildung wurde besonders durch den Teil des Sonnenlichtes gefördert, der durch gewöhnliches Glas nicht absorbiert wird. Beim Einfluß

des pH-Wertes auf das Wachstum zeigte sich eine Abhängigkeit dieser Wirkung von der Zusammensetzung der Nährlösung. Für die einzelnen Nährstoffe wurde festgestellt, daß als Kohlenstoffquelle Saccharose brauchbarer ist als Glucose, und daß Zellulose uberhaupt nicht angegriffen wird. Als Stickstoffquelle konnen Ammonsalze, Asparagin und Pepton Verwendung finden, Nitrate dagegen nicht. Kalium wurde als KH_2PO_4 oder K_2SO_4 gegeben. Kochsalz wirkte stets schädlich, während Magnesium für den Pilz unentbehrlich ist. Eisen soll dagegen entbehrlich sein. Auf das Myzelwachstum sind geringe Mengen Zink von gunstigem Einfluß. Mit ebenfalls geringen Mengen von Calcium, Kupfer, Mangan und Quecksilber wurden unter gewissen Bedingungen „stimulierende" Wirkungen erzielt. Auch durch Bios wird das Wachstum anfangs stark gefördert, wonach dann allerdings verstärkte Autolyse einsetzt. Aus allen diesen Untersuchungen haben sich keine Anhaltspunkte für Bekämpfungsmöglichkeiten mit chemischen Mitteln ergeben.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Nadson, G. und Rochlina, E., Über die Wirkungszone, die sterile Zone und die biologische Dosimetrie des Radiums. (Ann. de Roentg. et de Radiol. T. 13. Nr. 1—2. 1934. p. 23—24.) [Russisch.]

Bierwurze-Agar in der Petrischale wurde mit Sacch. cerevisiae XII besät und in die Mitte der Schale eine Kapillare mit Radon gesetzt. In der Umgebung der Kapillare entsteht eine sterile Zone, deren Ausdehnung in unmittelbarer Abhängigkeit von der angewandten Dosis stand. Die Form der sterilen Zone veränderte sich gleichfalls in Abhängigkeit von der Dosis. Bei geringen Dosen (1,8—5,4 mc.) ist sie elliptisch, und zwar entspricht die lange Achse der Ellipse der Achse der Kapillare; bei stärkeren Dosen nähert sich die sterile Zone der Kreisform und bei noch höheren Dosen (6,5—7,4 mc.) wird sie wieder elliptisch, jedoch liegt die lange Achse der Ellipse perpendikulär zur Achse der Kapillare. Die Dosis 7,4 mc. zerstört alle Hefezellen, mit Ausnahme der an den Enden der Kapillare gelegenen Teile des Nährbodens. Der biologische Effekt kurzandauernder Wirkung stärkerer Dosen ist geringer, als der Einfluß kleinerer Dosen während längerer Zeit. Wirkt die gleiche Dosis 24 Std. oder 4 Tage, so ist im zweiten Fall die sterile Zone viel ausgedehnter. Bei kurzandauernder Bestrahlung mit stärkeren Dosen läßt sich auf eine bedeutende Strecke über die Grenze der sterilen Zone hinaus Undichtigkeit des Wachstums beobachten, infolge der Zerstörung schwächerer Zellen. Das Wirkungsfeld des Radons ist viel ausgedehnter, als die sterile Zone. Es lassen sich 5 Zonen, von denen jede ihre Eigenart besitzt, feststellen. 1. Die Zone der Nekrose oder die sterile Zone. 2. Die Hemmungs- und Degenerationszone, deren Kolonien kleine Zellen mit viel Fetttröpfchen und Riesenzellen mit dicker Membran, die Dauerzellen ähnlich sind, enthalten. 3. Die Zone der Stimulierung, die Kolonien bestehen aus runden, energisch sprossenden Zellen und aus in die Länge gezogenen Zellen. 4. Die Zone der subnormalen Zellen, die etwas mehr Fett enthalten, als in der Norm und deren Plasma stärker lichtbrechend ist. 5. Die Zone der normalen Zellen. Aus einer Zelle kultivierte Hefe bietet ein gutes biologisches Testobjekt für Radiumdosierung.

A. Imšenecki (Leningrad).

Nielsen, N., Investigations on the effect of age upon the nitrogen content of yeast. (Comptes rendus Labor. Carlsberg. Vol. 19. 1931—1933. Nr. 16.)

Der Gehalt der Hefezellen an Stickstoff war in ganz jugendlichen Kulturen am höchsten. Er nahm mit fortschreitender Vermehrung der Zellen ab, um später mit dem Aufhören des Wachstums wieder etwas zuzunehmen.

Engel (Berlin).

Gwynne-Vaughan, H. C. J., and Williamson, H. S., The cytology and development of Ascophanus aurora. (Annals of Botany. Vol. 48. 1934. p. 261.)

Der Pilz lebt saprophytisch in den Kotballen der Schafe. Er gehört in die Gruppe der Discomyceten, ähnelt Pyronema confluens, unterscheidet sich aber von diesem durch seine Kleinheit und Zierlichkeit, ist homothallisch und monözisch, wie sich daraus zu erkennen gibt, daß sich seine Askusfruchte im Einspormyzelium entwickeln. Mehrere Sexualorgane bilden ein Apothezium. Auffallend ist die geringe Zahl der Kerne: im Antheridium 4—10, im Oogonium 8—20. Der Befruchtungsvorgang wird genau beschrieben und durch zahlreiche Abbildungen illustriert.

Engel (Berlin).

Gaßner, G. und Straib, W., Untersuchungen über das Auftreten biologischer Rassen des Weizengelbrostes im Jahre 1932. (Arb. d. Biolog. Reichsanstalt. Bd. 21. 1934. S. 59—72.)

In 77 Proben von Puccinia glumarum aus 59 verschiedenen Herkunftssorten wurden insgesamt 11 verschiedene Rassen festgestellt. Außer den bisher festgestellten Rassen 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9 und 12 wurden die Rassen 15, 16 und 17 neu gefunden. Am häufigsten wurden die Rassen 2, 3 und 5 festgestellt. Die Rostanalysen erfolgten in der früher beschriebenen Weise. Das Bestimmungssortiment wurde um eine Weizensorte Rouge prolifique barbu erweitert. Diese Sorte wurde bisher als Ergänzungssorte geführt. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Ronsdorf, L., Einige Versuche über biologische Rassen des Gerstenzwergrostes. (Arb. d. Biolog. Reichsanstalt. Bd. 21. 1934. S. 109—114.)

Das von Hey vorgeschlagene Bestimmungssortiment wurde durch Hinzunahme der Ägyptischen 4 zeiligen Sommergerste ergänzt. In 6 verschiedenen Zwergrostherkünften konnten die Rassen III, IV und IX festgestellt werden. Davon ist die letzte als neu beschrieben. Bei den Versuchen ergaben sich bei den Rassen II—V vielfach höhere Infektionstypen, als von Hey ermittelt wurden. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Gaßner, G. und Straib, W., Weitere Untersuchungen über biologische Rassen und über Spezialisierungsverhältnisse des Gelbrostes Puccinia glumarum (Schm., Erikss. und Henn.). (Arb. d. Biolog. Reichsanstalt. Bd. 21. 1934. S. 121—145.)

Aus 95 Gelbrostproben, die 1933 an 59 verschiedenen Orten gesammelt wurden, wurden 18 verschiedene Gelbrostrassen bestimmt. Davon waren 5 Rassen, 1 aus Deutschland und 4 aus dem Ausland, neu. Die Rassenverbreitung hängt zwar von den Anbauverhältnissen der verschiedenen Sorten ab. Jedoch müssen nach Ansicht der Verff. auch die Wechselbeziehungen zwischen Klimafaktoren und den durch diese bedingten Resistenzverschiebungen der Sorten zur Klärung herangezogen werden. Der auf Gerste und Quecke ge-

fundene Gelbrost erwies sich als identisch mit Rasse 4. Bei der Prüfung von einer größeren Zahl von Gelbrostrassen von Weizen zeigte sich, daß alle Rassen auf bestimmte Gerstensorten und auf Quecken übergehen können. Auch bei Infektionsversuchen mit 38 Roggensorten wurden in schwachem Maße Infektionen durch Gelbrost von Weizen beobachtet. Auf Grund ihrer Versuche sind Verff. der Ansicht, daß die von Eriksson vorgeschlagene Einteilung von Puccinia glumarum in formae speciales oder biologische Arten nicht aufrechterhalten werden kann.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Bever, W. M., Effect of light on the development of the uredial stage of Puccinia glumarum. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 507—516, 3 figs.)

Ein 12-Std.-Tag veränderte gegenüber einem 6-Std.-Tag nicht den Infektionstyp von Puccinia glumarum bei Temperaturen von 7—10° C und von 13 bis etwa 16° C. Bei kürzeren Tagen wurde jedoch die Inkubationszeit verlängert. Bei einer Tageslänge von über 12 Std. bleibt die Inkubationszeit unverändert. Der Infektionstyp wechselte jedoch von 4 zu 0. Hohe Lichtintensität verkürzte die Inkubationszeit und begünstigte die nachfolgende Entwicklung des Pilzes, während bei niedriger Lichtintensität der Rost nicht voll zum Ausbruch kam. Gute Infektionen wurden erhalten, wenn die Pflanzen nach der Infektion belichtet wurden, nachdem sie vorher 48 Std. lang beschattet wurden. In allen Fällen mußten die Pflanzen mit Glasglocken bedeckt werden, um die notwendige Feuchtigkeit zu haben. Uredosporen, die bei niedriger Lichtintensität gebildet wurden, keimten nicht in Kultur, mit ihnen wurden jedoch gute Infektionen erzielt. Bei über 22° C gingen Infektionen nicht mehr an. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Rondorf, L., Über Plasmolyse und Vitalfärbung bei Sporen und jungen Keimschläuchen und Getreiderostpilzen. (Phytopath. Ztschr. Bd. 7. 1934. S. 31—42.)

Während die Keimungsvorgänge der Rostsporen eingehend untersucht worden sind, liegen über Stoffaufnahme und Permeabilitätsverhältnisse von Sporen und wachsenden Keimschläuchen nur wenige Angaben vor. Verf.n hat Plasmolyseversuche mit solchen vorwiegend von Puccinia simplex durchgeführt. Der osmotische Wert war bei den Sporen etwa 1,3 mol Rohrzucker, bei den Keimschläuchen 0,9. Bei Verwendung von $CaCl_2$ lagen die Werte stets höher, was mit dessen schnellerem Eindringen in Zusammenhang gebracht wird. Der Parasit weist auch bedeutend höhere Werte auf als seine Wirtspflanze. Ein Einfluß von Temperatur, Licht und Alter der Sporen auf den osmotischen Wert konnte nicht festgestellt werden. Längerer Aufenthalt in plasmolysierenden Lösungen beeinträchtigt die Keimfähigkeit der Uredosporen der meisten Rostarten sehr stark oder verhindert sie ganz, wobei wiederum Unterschiede zwischen $CaCl_2$ und Rohrzuckrelösungen festgestellt werden konnten. Vitalfärbungsversuche mit Methylenblau und Neutralrot deuten darauf hin, daß eine Färbung von Sporen und Keimschläuchen vor dem Abtöten derselben eintritt. Braun (Berlin-Dahlem).

Denny, F. E., Oxygen requirements of Neurospora sitophila for formation of perithecia and growth of mycelium. (Contributions from Boyce Thompson Institute. Vol. 5. 1933. p. 95.)

Die Bildung der Perithezien von Neurospora sitophila erfolgte bei Zimmertemperatur noch bei einem O_2-Gehalt der Luft von 1—2 Vol.-%. Darunter blieb sie aus. Die Bildung der Perithezien war auch stark von der Temperatur abhängig. Bei 10° C blieb sie ohne Rücksicht auf die O_2-Konzentration vollständig aus, bei 15° trat sie gelegentlich auf. Dagegen war das Wachstum des Mycels viel weniger sauerstoffabhängig. Noch bei 0,3% O_2 fand rasches Wachstum statt, und selbst bei 0,01% und tiefer konnte Weiterentwicklung des Mycels beobachtet werden. Erst in völlig O_2-freier Atmosphäre unterblieb das Wachstum. Engel (Berlin).

Cartwright, K. St. G., and Findlay, W. P. K., Studies in the physiology of wood-destroying fungi. II. Temperature and rate of growth. (Annals of Botany. Vol. 48. 1934. p. 481.)

Verff. bestimmten die Temperaturkurven folgender holzzerstörender Pilze: Merulius lacrymans, M. sylvester. Coniophora cerebella, Lentinus lepideus, Lenzites trabea, L. betulina, Poria vaporaria, Daedalea quercina, Polystictus versicolor, Ganoderma applanatum, Trametes gibbosa, Tr. serialis, Schizophyllum commune, Pleurotus ostreatus, Fomes cryptarum, F. annosus, Stereum hirsutum, St. purpureum, St. spadiceum, St. frustulosum, St. rugosum, Paxillus panuoides, Polyporus adustus und P. fumosus. Als Maß des Wachstums diente der tägliche Zuwachs des Myzels auf Malzextraktagar. Jeder Pilz hatte charakteristische Kardinalpunkte und wuchs mit einer bestimmten Geschwindigkeit, so daß die Temperaturkurve als wichtiges Hilfsmittel zur Unterscheidung der verschiedenen holzzerstörenden Pilze dienen kann. Sie gibt auch Aufschluß über bestimmte ökologische Fragen sowie über die geographische Verbreitung der Pilze.

Engel (Berlin).

Enzymologie und Bakteriophagie.

Tanner, F. W. und Byerley, J. R., The effect of ultraviolett light on the fermenting ability of Yeasts. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 5. 1934. S. 349—357.)

Die Verff. überprüften neuere Behauptungen, wonach Ultraviolettbestrahlung von Hefe bzw. auch lediglich des Substrates vor der Impfung Gärung und Vermehrung beförderten. Sie fanden indessen bei Bestrahlung von Hefe in Dextrose-Fleischbrühe vor und nach Eintritt der Gärung in wäßriger Aufschwemmung und von Dextrosefleischbrühe längere Zeit vor der Impfung niemals fördernde, sondern nur schädliche Wirkungen, gemessen an der Gasbildung. Rippel (Göttingen).

Haritantis, B. J., Einige Beobachtungen über die Stickstoffbindung durch Leguminosensamen. (Ztschr. f. Pflanzenernähr., Düngung u. Bodenkunde. Teil A. Bd. 34. 1934. S. 257.)

Verf. prüfte die Beobachtungen Vitas nach Biochem. Ztschr. Bd. 245. S. 210; Bd. 252. S. 278; Bd. 255. S. 82), wonach keimende Leguminosen den atmosphärischen Stickstoff mit Hilfe eines „Azoligase“ genannten Enzyms binden können. Die Befunde Vitas wurden bestätigt. Da aber sowohl den Versuchen Vitas wie auch Verf.s ein prinzipieller Fehler anhaftet, und da es sich hier um eine Frage von allergrößter Bedeutung han-

delt — würde doch die N-Bindung bei den Leguminosen kein rein bakterieller Vorgang mehr sein — muß auf die Ausführungen Verf.s näher eingegangen werden. Der Gesamtstickstoff der Samen während der Keimung wurde auf Trockensubstanz bezogen. Da aber die Trockensubstanzmenge während der Keimung abnimmt, muß der relative N-Gehalt bei gleichbleibender absoluter N-Menge zunehmen. Mit dem Entfalten und Ergrünen der ersten Blätter und der beginnenden Photosynthese muß dann naturnotwendig der relative N-Gehalt wieder abnehmen. Hiermit stehen folgende Beobachtungen Verf.s in bester Übereinstimmung: 1. Die Zeitkurve des Gesamt-N besaß ein typisches Maximum. Diese Erscheinung veranlaßte Vita wie auch den Verf. dazu, der „Azoligase“ nicht nur die Fähigkeit zur N-Bindung sondern auch zur N-Entbindung zuzuschreiben. 2. Im Dunkeln trat der nachträgliche N-Verlust entweder überhaupt nicht ein, oder aber er war im allgemeinen wesentlich geringer als im Licht und lag dann meistens innerhalb der möglichen Abweichung der Parallelen. Da im Dunkeln photosynthetische Vorgänge nicht erfolgen, war diese Erscheinung durchaus erklärlich. 3. Bei Luftabschluß waren die N-Gewinne geringer. Auch das ist erklärlich, da unter anaeroben Verhältnissen der Keimprozeß gestört, zumindest aber die Trockensubstanzabnahme wesentlich herabgesetzt ist. Es liegt also vorläufig noch kein Grund vor, für die Leguminosen eine „Azoligase“ als Ursache der N-Bindung anzunehmen, und unsere bisherigen Vorstellungen über die Bedeutung der Knöllchenbakterien zu ändern. Es ist zunächst einmal nachdrücklichst zu fordern, daß bei derartigen Versuchen der N-Gehalt der Samen nicht in Prozenten der Trockensubstanz, sondern in absoluten Zahlen mitgeteilt wird. Nur so läßt sich entscheiden, ob man es tatsächlich mit N-Gewinnen zu tun hat. Engel (Berlin).

Sato, M., Studies of proteolytic enzymes. VII. On the peptidase of green malt. (Compt. Rend. Laboratoire Carlsberg. Vol. 19. 1931—1933. Nr. 1.)

Die Untersuchungen machten wahrscheinlich, daß der Peptidasekomplex im Malz (wie in der Hefe) zusammengesetzter Natur ist. Das ergab sich aus Versuchen, bei denen die Spaltungsgeschwindigkeit von Alanylglycin und Leucylglycin sowie von einigen noch höher zusammengesetzten Peptiden ermittelt wurde. Je nach der Herstellung des Enzympräparates, vor allem jedoch nach der Konzentration der Dipeptidmischungen, verlief die Aufspaltung verschieden schnell, so daß die Ansicht nicht von der Hand zu weisen war, daß mindestens zwei Peptidasen wirksam waren. Die eine zeigte größere Affinität zum Alanylglycin (Nr. I), die andere zum Leucylglycin (Nr. II). Die erste arbeitete optimal bei etwa ph 7,9, die andere bei etwa 8,6. Engel (Berlin).

Sato, M., Studies of proteolytic enzymes. VIII. Note on the stability of the enzymes of malt. (Compt. Rend. Laboratoire Carlsberg. Vol. 19. 1931—1933. Nr. 2.)

Die Versuche stärkten Verf. in der Annahme, daß man es beim Peptidasekomplex im Malz mit mindestens zwei verschiedenen Enzymen zu tun hat. Es konnte nämlich gezeigt werden, daß je nach den Versuchsbedingungen entweder die Alanylglycin oder Leucylglycin bevorzugt spaltende Peptidase beständiger ist. So verlor z. B. das Alanylglycin hydrolysierende Enzym in Extrakten, die mit 88% Glycerin hergestellt waren, sehr schnell

seine Wirksamkeit, während die Leucylglycin-Peptidase im Gegenteil stabilisiert wurde. Engel (Berlin).

Linderstrom-Lang, K., and Holter, H., Contributions to the histological chemistry of enzymes. I. The estimation of small cleavages caused by enzymes. (Compt. Rend. Laboratoire Carlsberg. Vol. 19. 1931—1933. Nr. 4.)

Die Unzulänglichkeiten der bisherigen Methoden zur Bestimmung von Enzymaktivitäten in Fällen, in denen es sich um die Untersuchung kleiner Gewebselemente oder nur weniger Zellen handelt, veranlaßten Verff. zur Ausarbeitung einer ganzen Reihe von Mikromethoden. Es sei auf diese hier kurz hingewiesen, da sie sich auch für die durch Mikroorganismen hervorgerufenen Spaltungen und Gärungen besonders eignen. In der vorliegenden I. Mitteilung wird eine Methode zur Bestimmung der Peptidase-Aktivität in Vorschlag gebracht. Im Prinzip wird der nach der Hydrolyse am Aminosäure-Molekül freigewordene NH_2-N mit alkoholischer Salzsäure in Azetonlösung titriert. Neu an der Methode sind die winzigen Reaktionsgefäße, Büretten, Pipetten und sonstigen Titriervorrichtungen, die infolge der ungewöhnlich kleinen Flüssigkeitsmengen ganz besondere Veränderungen erforderten. Diese werden eingehend beschrieben und durch eine Reihe von Zeichnungen illustriert. Engel (Berlin).

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Stark, C. N., Gordon, R., Mauer, J. C., Curtis, L. R., and Schubert, J. H., Studies on Acidophilus milk. (Am. Journ. of Publ. Health. Vol. 24. 1934. p. 470—472.)

Von insgesamt 2172 Stuhlproben von 124 verschiedenen Personen wurde folgendes bestimmt: Zahl der Langstäbchen, Zahl der gramnegativen, nicht sporenbildenden gasbildenden Coli-Typen, Streptokokken, Hefen, aerobe und anaerobe Sporenbildner, pH, Indolmenge, Gesamtgewicht und Wassergehalt des Kotes.

Ergebnis: Alle Personen hatten Langstäbchen in ihren Stühlen, in der Regel 1000 pro g. 40% hatten mehr als dies und manche mehr als 1 Million. Es zeigte sich hierbei kein deutlicher Zusammenhang der normalen Verbreitung von Langstabchen im Stuhl Erwachsener mit der gereichten Diät. Wahrend der Zeit, wo die Patienten Azidophilusmilch gereicht bekamen, wiesen 35% der Proben Zahlen von 10 Millionen, rund 35% Zahlen von 100 Millionen bis zu 1000 Millionen und mehr pro g auf. Die mit der Milch eingenommenen Azidophilustypen verschwanden aber bald nach Aufhoren des Azidophilusmilchgenusses (innerhalb 2—6 Wochen) ohne Rücksicht darauf, ob die Patienten fortfuhren, Milch- und Laktosediät einzuhalten. Die Colitypen fanden sich in Mengen hoher als 10 Millionen pro g bei mehr als der Hälfte der Proben, ein Fünftel enthielt 100—1000 Millionen und mehr. Die Einnahme von Azidophilusmilch brachte hierin wenig Änderungen. Betreffs der Streptokokken zeigten volle zwei Drittel der Proben von solchen Personen, die niemals Azidophilusmilch genossen hatten, mehr als 10 Millionen pro g und annahernd ein Fünftel 100—1000 Millionen und mehr. Während des Azidophilusgenusses trat ein deutlicher Rückgang ein. Hefen fanden sich nur sehr wenig, mehr als die Hälfte der Proben hatte weniger als 100 pro g. Vor dem Azidophilusgenuß besaßen rund die Hälfte aller Proben mehr als 1 Million anaerober Sporenbildner, vereinzelte Proben auch mehr als 1000 Millionen pro g. Hernach war eine deutliche Abnahme festzustellen, jedoch nicht so sehr bei den Arten, die, wie Cl. Welchii, in Milch rasche und stürmische Gärungen verursachen. Die aeroben Sporenbildner verhielten sich zahlenmäßig ähnlich wie die Hefen. Der Indolgehalt des Kotes wurde sowohl durch Azidophilusgenuß wie durch Einnahme von mit 3% Laktose versetzter Milch herabgedrückt. Kein Einfluß wurde auf die Wasserstoffzahl des Kotes ausgeübt (rund 7,3 ph). Die Stühle der an Verstopfung leidenden Personen

hatten weniger Wassergehalt als die normalen, die Azidophilusdiät erhöhte in beiden Fällen den Wassergehalt, der nach Sistierung nur bei den gesunden Personen wieder zurückging. Durch den Azidophilusmilchgenuß wurde das durchschnittliche Gewicht des Stuhles um volle 10 g erhöht, bei den nicht an Verstopfung leidenden sogar bis zu 20 g. Nach der 18 Monate dauernden Untersuchung stellte sich heraus, daß zwei Drittel aller Patienten, die an Verstopfung litten, von der Azidophilusbehandlung Besserung ihres Leidens erfahren hatten, aber auch die übrigen Personen behaupteten, daß sich auf Grund der Azidophiluskur eine Besserung ihres physischen Zustandes eingestellt hatte. K. J. Demeter (Weihenstephan-München).

Parfitt, E. H., Methods for the microbiological analysis of butter. (Am. Journ. of Publ. Health. Vol. 24. 1934. p. 303—308.)

Die Ursache dafür, daß bei Pilz- und Hefekeimzahlbestimmung der Molkenagar keine so hohen Werte wie andere Agarsorten gibt, ist jedenfalls nicht in der mangelnden Pufferungskapazität zu suchen; denn bei dem viel stärker gepufferten Tomatensaftagar z. B. konnte die Wirkung auf das Wachstum nicht entsprechend gesteigert werden. Auf der Suche nach einem brauchbaren, jedoch leicht im Laboratorium herstellbaren Nährboden hat Verf. einen solchen in Kartoffelglukoseagar gefunden. Zur Erzeugung der notwendigen Wasserstoffionenkonzentration (pH 3,5) hat sich Weinsäure am zweckmäßigsten erwiesen; denn diese wird im Vergleich zu den übrigen organischen oder anorganischen Säuren am langsamsten von den Schimmeln und Hefen neutralisiert, was den Vorteil mit sich bringt, daß das Bakterienwachstum wegen der länger bestehen bleibenden sauren Reaktion kaum in Erscheinung tritt. Was die Bestimmung der Gesamtkeimzahl betrifft, so hat Verf. mit dem leicht herstellbaren 1% Bakto-Fleischextraktagar ebenso gute Resultate erhalten wie White mit seinem 1% Laktose-Fleischwasseragar. Von den Bakteriengruppen sind die wichtigsten die Eiweiß- und Fettzersetzer. Für die Bestimmung der Proteolyten sind zwei Methoden vorgeschlagen: 1. Kolonien abzuimpfen und in sterile Magermilch zu verbringen; 2. Kaseinhaltige Nährböden zu verwenden und die aufhellenden Kolonien direkt auszuzählen. Hier ist noch viel problematisch. Verf. schlägt als einfacheres Verfahren vor, Fleischwasseragar vor dem Gießen ½ ccm Magermilch zuzufügen und die hofbildenden Kolonien zu bestimmen. In Zweifelsfällen genügt es, wenn die Platten zur Ausscheidung falscher Proteolyse mit 10 proz. Salzsäure überschwemmt werden. Für die Fettzersetzer ist Nilblausulfatagar empfohlen worden. Die durch diesen Farbstoff rot gefärbten Fetttropfen färben sich bei der Hydrolyse blau. Es muß hierbei darauf geachtet werden, daß Kolonien, die lediglich den blauen Farbstoff adsorbieren, nicht als fettzersetzende Kolonien betrachtet werden. Als mikroskopische Methode kommt diejenige von Hammer und Nelson in Betracht (Auszentrifugieren und Mikroskopieren der Butterlake nach dem Breedschen Zählverfahren).

K. J. Demeter (Weihenstephan-München).

Prouty, C. C., Studies on the Leucocyte content of milk drawn from Brucella abortus infected udders. (Journ. of Bacter. Vol. 27. 1934. p. 293—301.)

Untersucht wurden 18 mit Abortus Bang infizierte Tiere. Bei 13 dieser Tiere konnten Bangbazillen in der Milch aller oder doch einzelner Viertel nachgewiesen werden. Der Gehalt an Leukocyten wurde in den Viertelsgemelken durch direkte Zählung festgestellt. Im Durchschnitt ent-

hielten die 21 infizierten Viertel 355 000, die 51 nicht infizierten Viertel 343 000 Leukocyten im Kubikzentimeter. Da eine Anzahl Viertel gleichzeitig eine Infektion mit dem Str. mastiditis aufwiesen, durch die der Gehalt an Leukocyten erhöht wird, wurde der mittlere Zellgehalt nach Ausscheidung dieser Viertel bestimmt, Er ergab sich zu 145 000 bzw. 185 000 im Kubikzentimeter für die infizierten bzw. für die nicht infizierten Viertel. Ähnliche Durchschnittswerte wurden für den Leukocytengehalt in Milch von Tieren, die aus Beständen stammten, in denen keine Bang-Erkrankung vorlag, festgestellt. Durch die Bang-Erkrankung wird also der Leukocytengehalt der Milch nicht erhöht. Richter (Kiel).

Macy, H., and Steele, G. H., Butter as a substrate for mold growth. (Journ. of Dairy Science. Vol. 17. 1934. p. 397—407.)

Die rund 370 untersuchten Pilze stammten aus Butter, Molkereigeräten und Packmaterial. Sie wurden in ungesalzene sterile Butter verimpft und die Proben bei starker Feuchtigkeit und reichlicher Luftzufuhr bei verschiedenen Temperaturen aufbewahrt. Im besonderen wurde darauf geachtet, inwieweit sich unter den regelmäßig vorkommenden Schimmelpilzen auch solche finden, die keinerlei schädlichen Einfluß auf die Butterqualität ausüben.

Die Ergebnisse waren folgende: 1. Wachstum bei + 22° C: rund drei Fünftel der Kulturen zeigten gutes bis üppiges Wachstum, nur 4 ließen überhaupt kein Wachstum erkennen (Aspergillus niger, 2 Oospora lactis-Stämme und eine nicht identifizierte Kultur). 2. Wachstum bei + 5° C: Im Gegensatz zu 22° C konnte hier bei keinem der Schimmelpilze auch nach der 4-Wochen-Periode ein gutes Wachstum beobachtet werden. Die Gattung Aspergillus war dieser Temperatur gegenüber empfindlicher als die Penicillium-Arten. Überhaupt keine Entwicklung zeigten nach 2 Wochen folgende Arten: Acremoniella brevis, Acrostalagmus cinnabarinus, Aspergillus candidus, Aspergillus micro-virido-citrinus, Aspergillus ustus, Monilia geophila, Mucor plumbeus, Penicillium fellutatum und Rhizopus speciosus. Nach Verbringung in + 22° C setzte innerhalb 2 Wochen bei den meisten Kulturen eine vielfach sehr üppige Entwicklung ein. Wachstum bei — 18° C: Bei dieser Temperatur ließen nur 2 Kulturen nach 2wöchentlicher Bebrütung eine Spur von Wachstum erkennen: Penicillium viridicatum und Penicillium griseo-fulvum. Der hemmende Einfluß dieser tiefen Temperatur kam somit überzeugend zum Ausdruck. Die Verbringung dieser „cold storage"-Proben für eine Woche auf + 5° C ergab keine Veränderung, weitere 8 Tage bei + 22° C hatten jedoch bei den meisten Pilzen eine Erholung zur Folge, und zwar vielfach in der Weise, als ob gar keine Kälteperiode vorausgegangen gewesen wäre. Verfärbung der Butter: Bei den Temperaturen von + 5 und — 18° C konnte keine Verfärbung der Butter als solche beobachtet werden, wenn von der Eigenfarbe mancher Hyphen und Sporen abgesehen wurde. Über die bei + 22° C aufgetretene echte Verfärbung ist folgendes zu bemerken: Acremoniella und Acrostalagmus braun, Alternaria dunkelbraun oder rauch-schwarz, oft die ganze Butter erfassend; Aspergillus in der Hauptsache gelb, aber auch rot, braun, grün und schwarz; Cephalosporium braun bis schwarz; Hormodendrum dunkelbraun, dunkelgrün oder rauch-schwarz, oft die ganze Butter durchweg färbend; Monilia und Mucor gelb, braun oder grün; Oospora rot oder braun; Penicillium hauptsächlich gelb oder grün, aber auch orange, rot, braun oder schwarz; Phoma rot, braun, grün oder schwarz; Spicaria orange oder braun; Sporotrichum schwarz; Stemphyllium rosa, rot oder rötlich-braun; Trichoderma gelb oder schwarz; Trichothecium braun oder schwarz; von den nicht identifizierten Schimmeln wurden rote, rosarote, gelbe, orangene, grüne, braune oder schwarze Verfärbungen verursacht. Die stärksten Farbstoffbildner waren Alternaria, Hormodendrum, Phoma und Stemphyllium. Die übrigen Arten hatten, abgesehen von ihrer Eigenfarbe, keine Verfärbung der in ihrem Umkreis befindlichen Butter zur Folge. Einfluß auf Aroma: Der allgemeine Charakter der schimmeligen Butterproben war nach „altem Käse",

des weiteren wurden häufig folgende Urteile ausgesprochen: stechend, moderig, stinkend, flüchtig sauer, nach Früchten und unrein.

In manchen Fällen war eine Geschmacksveränderung schon zu einer Zeit bemerkbar, wo noch gar kein sichtbares Wachstum der betreffenden Schimmelpilze beobachtet werden konnte.

K. J. Demeter (Weihenstephan-München).

Mikrobiologie des Düngers, Bodens, Wassers und Abwassers.

Korsakova, M. P., and Nikitina, E. A., Decomposition of pectin-substances by microorganisms. (Bull. of the State Inst. of Agric. Microbiol. USSR. Vol. 5. 1933. p. 37—51.) [Russ. m. engl. Zusfassg.]

Reinkulturen von Granulobacter pectinovorum, Bac. amylobacter, Bac. asterosporus, Bac. mesentericus, Bac. subtilis, Bac. fluorescens liquefaciens, Aspergillus niger, Aspergillus oryzae, Mucor stolonifer und Cladosporium wurden hinsichtlich ihrer Fähigkeit, Pectin zu zersetzen, vergleichend untersucht. Dabei kamen nicht reines Pectin, sondern Stoffe zur Verwendung, die besonders reich an Pectin sind. Die Methode der Untersuchung beruht auf der Bestimmung der Bestandteile des Pectins: Galacturonsäure, Pentose und Methylpentosane. Auf diese Weise wurde nicht nur über die Intensität der Pectinzerstörung sondern auch darüber, welche Teile desselben bevorzugt angegriffen werden, Aufschluß erhalten. Von den untersuchten Bakterien steht Bac. asteroporus an erster Stelle. Er ist imstande, bis 93,7% des gegebenen Pectins umzusetzen. Dann folgen Granulobacter pectinovorum mit 82%, Bac. mesentericus mit 50% und Bac. subtilis mit ungefähr 20%. Von Bac. amylobacter wird Pectin nur sehr schwach und von den anderen genannten Arten gar nicht hydrolisiert. Gewisse Unterschiede im Verhalten verschiedener Rassen derselben Art konnten ebenfalls festgestellt werden. Der erste Angriff auf das Pectin erfolgt durch Aufspaltung desselben in Araban und Pectinsäure, wobei alles in Lösung geht, und das Gewebe zerfällt. Diese beiden Bestandteile unterliegen dann einem weiteren Abbau, wobei Galacturonsäure im allgemeinen ebensogut veratmet wird wie Arabinose. Nur Granulobacter pectinovorum vermag diese Säure nicht weiter abzubauen.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Scharrer, K. und Schropp, W., Wasserkulturversuche über die Wirkung des Bors in Düngemitteln. (Phytopath. Zeitschr. Bd. 7. 1934. S. 245—254.)

Zur Klärung der Frage nach der Wirkung geringer Bormengen in gewissen Düngemitteln haben Verff. Versuche in Wasserkultur mit Stickstoff in Form von synthetischem Natronsalpeter mit und ohne Zusatz von Bor und in Form von Chilesalpeter durchgeführt. Als Versuchspflanzen wurden Sommerweizen und -roggen, Futtermais, Zucker- und Futterrüben benutzt. Bei den drei ersten Pflanzenarten konnten keine gesicherten Ertragsunterschiede festgestellt werden mit Ausnahme von Sommerroggen, der durch Chilesalpeter eine geringe Ertragserhöhung erfuhr. Futter- und Zuckerrüben dagegen waren in Natronsalpeter ohne Bor vollkommen herz- und trockenfaul, bei Zusatz von Bor und in Chilesalpeter dagegen vollkommen gesund. Entsprechend groß waren auch die Ertragssteigerungen.

Braun (Berlin-Dahlem.)

Olsen, C., Studies of nitrogen fixation. I. Nitrogen fixation in the dead leaves of forest beds. (Compt. Rend. Laboratoire Carlsberg. Vol. 19. 1931—1933. Nr. 9.)

In kompostierenden Blättern von Buche und Eiche wurde nicht nur eine Zunahme des relativen N-Gehaltes beobachtet (infolge des Verlustes an Trockensubstanz), sondern ein absoluter Gewinn an Stickstoff. Dieser war in den mit $CaCO_3$ gemischten Blättern besonders ausgeprägt, nämlich bei den Buchenblättern 180 mg N je 100 g der ursprünglichen Trockensubstanz, bei den Eichenblättern 170 mg. Unter ph 5,0 fand keine N-Bindung statt. Die absolute N-Zunahme hörte im allgemeinen auf, sobald im Laufe der Verrottung der relative N-Gehalt auf etwa 2,2% gestiegen war. Zu diesem Zeitpunkt, der je nach den Versuchsbedingungen verschieden war, setzte die Nitrifikation ein, während vorher weder Nitrat-N noch Ammoniak-N festgestellt werden konnten. In den Hainbuchenblättern fand keine N-Bindung statt, da diese infolge ihres hohen N-Gehaltes schnell zersetzt wurden. Bemerkenswert war noch, daß in den Blattkomposten, in denen N-Bindung stattfand, Azotobakter nicht vorhanden war, wohl aber Clostridium-Formen.

Engel (Berlin).

Fehér, D., Experimentelle Untersuchungen über die mikrobiologischen Grundlagen der Schwankungen der Bodenazidität. II. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 5. 1934. S. 402—420.)

Verf. wendet sich gegen einige Einwände hinsichtlich seiner Versuchsmethodik. Er gibt nun eine rechnerische Methode an, die gestattet, aus dem Wassergehalt des Bodens die dadurch bedingte Änderung der ph-Zahl zu ermitteln. Bei Feuchtigkeitsgehalten von 5—25% ist diese Wirkung der Bodenfeuchtigkeit so gering, daß sie praktisch bedeutungslos ist. Der Unterschied ist bei dem festen Verhältnis zur Untersuchung Boden : Wasser =1: 2 meist kleiner als ph 0,1. Bei größeren Feuchtigkeitsschwankungen kann mit Hilfe seiner Methode bei bekanntem Wassergehalt eine entsprechende Korrektur vorgenommen werden, bzw. der nicht biologisch bedingte Anteil an der Schwankung erkannt werden.

Die Veränderungen der ph-Werte bei feuchtem Aufbewahren des Bodens sind mikrobiologischer Natur; sie bleiben in sterilisierten Böden aus, in später geimpften stellen sie sich wieder ein. Doch wirkt nur Sterilisation in heißem Dampf unter Druck, da trockene Sterilisation die Tätigkeit der Mikroorganismen nicht unterbindet. Durch gleichzeitige Bakterien- und Pilzzählung konnten die erwähnten Zusammenhänge weiter gestützt werden.

Das Gesagte gilt auch für die Leitfähigkeit bzw. Gesamtsalzkonzentration.

Rippel (Göttingen).

Fehér, D., Die Verwendung der elektrometrischen ph-Messung bei der Ermittlung der Keimzahl der Böden. II. Mitt.: Vergleichende Übersicht über die gewonnenen Untersuchungsergebnisse. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 5. 1934. S. 436—442.)

In Ergänzung einer früheren Mitteilung wird über ausgedehnte Versuche berichtet, die zeigen, daß man mit Hilfe der ph-Bestimmung im Verdünnungsverfahren die Keimzahl eines Bodens bestimmen kann (vgl. zur Methode das Referat in dieser Zeitschrift, Bd. 89, S. 170). Auch die Leitfähigkeitsmessung kann in gleicher Weise herangezogen werden.

Verf. führt den Begriff „Aktivitätsgrad“ ein, worunter diejenige höchste Verdünnung eines Bodens verstanden ist, die beim Einbringen in sterilen Boden noch mit physiko-chemischen Methoden meßbare, durch die Tätigkeit der Bodenmikroorganismen bewirkte Veränderungen hervorruft.

Rippel (Göttingen).

Behrens, W. U., Zum Energieumsatz der Mikroorganismen des Bodens. (Ztschr. f. Pflanzenernähr., Düng. u. Bodenkunde. Teil A. Bd. 34. 1934. S. 223.)

Verf. wendet sich gegen die allgemein herrschende Ansicht, daß zur Beurteilung des Energieumsatzes der Mikroorganismen die Messung der Wärmetönung der vollzogenen Reaktion ausreiche. Allein maßgebend sei die bei der Umsetzung geleistete maximale Arbeit, die für einige Vorgänge wie die Oxydation von Ammoniak zu salpetriger Säure, von salpetriger zu Salpetersäure, von Schwefelwasserstoff zu Schwefel, von Ferro- zu Ferrieisen sowie für die Bildung von elementarem Stickstoff aus Nitraten berechnet wird. Um dem Titel der Arbeit vollauf gerecht zu werden, hätte Verf. die Erreger obengenannter Reaktionen mit ihren Namen oder doch wenigstens die gebräuchlichen biologischen Bezeichnungen wie Nitrifikation, Denitrifikation usw. erwähnen sollen. Engel (Berlin).

McCool, M. M., Effect of thallium sulphate on the growth of several plants and on nitrification in soils. (Contributions from Boyce Thompson Institute. Vol. 5. 1933. p. 289.)

Während Thalliumsulfat schon in sehr geringen Konzentrationen das Wachstum der höheren Pflanzen ungünstig beeinflußte, waren verhältnismäßig große Mengen erforderlich (0,24%), um die Nitrifikationsorganismen im Boden merklich zu schädigen. Skallau (Berlin).

Koschkin, M. L., Die Bedeutung des Ammoniaks für das Chlorbindungsvermögen. III. Mitteilung: Präammonisation mit Ammoniumsalzen. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 116. 1934. S. 86—94.)

Nicht nur das Ammoniak — wie bisher festgestellt —, sondern offenbar die ganze Ammoniumgruppe besitzt die spezifischen Eigenschaften, das Chlorbindungsvermögen des Wassers herabzusetzen, die bakterizide Wirkung des Chlors zu steigern und den Chlorphenolgeruch zu verhindern. Verbindungen mit anderen Basen als Ammoniak zeigten ebensowenig eine Wirkung wie einige geprüfte Aminosäuren.

Rodenkirchen (Königsberg Pr.).

Rudolfs, W. und Ziemba, J. V., The efficiency of chlorine in sewage disinfection as affected by certain environmental factors. (Journ. of Bact. Vol. 27. 1934. p. 419—442.)

Die Versuche wurden mit häuslichem Abwasser durchgeführt. Es zeigte sich, daß eine starke bakterizide Wirkung durch die Chlorierung bereits eintrat, wenn wesentlich geringere Chlormengen zum Abwasser gegeben wurden als dem Chlorbindungsvermögen innerhalb 10 Min. entsprach. Es ist also nicht erforderlich, daß noch freies Chlor vorhanden ist, vielmehr muß angenommen werden, daß bakterizid wirkende Zwischenprodukte entstehen, die für die endgültige Wirkung bestimmend sind. Als solche Zwischenstoffe kommen Chlor-Pepton- und Chlor-Eiweiß-Verbindungen, wie die Versuche

ergaben, nicht in Frage. Die Bakterienabnahme ist bei teilweiser Chlorung bei Wässern mit starkem Chlor-Bindungsvermögen stärker als bei solchen mit schwachem Chlor-Bindungsvermögen. Bei Anwesenheit von Harn muß mindestens eine Chlorung bis zu 50% des Bindungsvermögens erfolgen, wenn eine ausreichende Abtötung eintreten soll. Gealtertes Abwasser zeigte eine stärkere Bakterienabnahme bei teilweiser Chlorung als frisches, selbst wenn die Alterung bei 0° vorgenommen wurde. Richter (Kiel).

Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz im allgemeinen.

Munro, F. L., and Newton, W., The inhibition of the growth of fungi by chemicals. (Scientific Agriculture. Vol. 14. 1934. p. 560—564.)

Bei Anwendung von Chemikalien zur Parasitenbekämpfung kommt es darauf an, daß der Quotient von Dosis tolerata und Dosis toxica möglichst groß ist. Verff. haben eine große Reihe von Stoffen auf ihre Wirkung gegenüber verschiedenen Fusarium-Arten, Pythium und Rhizoctonia sowie auf Weizensämlinge untersucht. Eine Gegenüberstellung der gefundenen Werte zeigt, daß der Quotient für 4 Stoffe (Phenol, Chresol, Chinosol, Malachitgrün) größer ist als 1, für je 8 dagegen 1 bzw. geringer als 1. Braun (Berlin-Dahlem).

Crosier, W., Abnormal germination in dusted wheat. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 544—547, 1 fig.)

Bei Weizensaatgut, das im Februar 1931 mit Ceresan trocken gebeizt wurde, zeigte sich im Juli 1932 bei Keimversuchen in großer Zahl anormale Keimung. Von 100 Körnern waren 49 normal gekeimt, 13 hatten normale Plumula, aber kurze, verdickte Wurzeln, 34 anormale Plumula und Wurzeln, 4 waren tot. Durch Waschen der Körner konnten die Schädigungen nicht beseitigt werden. Bei der Untersuchung der Körner zeigte sich, daß die Samenhaut vielfach gerissen oder abgebröckelt war, so daß der Embryo freilag. Bei anderem Saatgut, bei dem die Samenhaut künstlich beschädigt wurde, wurden nach Beizung mit Ceresan Schäden nicht beobachtet. Verf. ist der Ansicht, daß die Schäden entweder auf die Verletzungen oder auf ungünstige Lagerung zurückzuführen waren. (Wahrscheinlich waren beide Faktoren beteiligt. Das künstlich verletzte Saatgut lagerte nur kurze Zeit. D. Ref.)
Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Köck, G., Über die Rauchgasfiltrationswirkung eines Fichtenbestandes. (Phytopath. Ztschr. Bd. 7. 1934. S. 255—258.)

Verf. berichtet über einen in einem Fichtenbestand durchgeführten Versuch, der 600 m von einer Rauchgasquelle stand. Er hat mit Hilfe von aufgehängten Barytlappen nachweisen können, daß ein diesen Bestand überragender Baum in einer Entfernung von 180 m von dem Waldrand von unterschiedlich starken Rauchgasmengen getroffen wurde, und zwar wurde die geringste Menge in der Durchschnittshöhe des Fichtenbestandes nachgewiesen, was dafür spricht, daß dieser als Filter gewirkt hat.
Braun (Berlin-Dahlem).

Swaine, J. M., The relation of insect activities to forest development as exemplified in the forests of Eastern North America. (Scientific Agriculture. Vol. 14. 1933. p. 8—31.)

Verf. gibt zunächst einen Überblick über die Geschichte der Wälder an der Ostküste von Nordamerika und bringt zahlenmäßige Unterlagen für die Veränderungen, die in dem Waldbestand eingetreten sind. Die Holzzerstörungen sind im wesentlichen auf 5 verschiedene Ursachen zurückzuführen, auf die Tätigkeit von Siedlern und Holzhändlern, auf Feuer, auf Insekten, auf Pilze und auf Wind- und Schneeschäden. Außer dem zahlenmäßigen Rückgang ist auch eine qualitative Verschlechterung der Bestände eingetreten, indem weniger wertvolle Hölzer an die Stelle von hochwertigen getreten sind. Als Insektenschädlinge, die wesentlich an diesen Veränderungen mit beteiligt sind und bei denen zwischen primären und sekundären unterschieden wird, werden angeführt Cacoecia fumiferana Clem., Lygaeonematus erichsoni Hg., Haploptilia laricella Hb., Ellopia fiscellaria Guen., Dentroctonus piceaperda Hopk., Dreyfusia piceae Rtzb., Diprion polytomum Hartig, Peronea variana Fern., Crytococcus fagi Barensp., über die im einzelnen nähere Angaben gemacht werden. Dabei wird insbesondere auch auf die Beziehungen zwischen den Insekten und den anderen Organismen des Waldes eingegangen. Abschließend werden die Faktoren ausführlich behandelt, die für den Ausbruch von Epidemien und ihr Erlöschen bestimmend sind. Hier werden Klima und Witterung, Geschlechtsverteilung, Nahrungsmenge in Verbindung mit den Waldtypen, zeitliche Folge der Epidemien, Änderungen in den Gewohnheiten der Schädlinge, Wirtswahl und Veränderungen der Wirtspflanze als Folge jahreszeitlicher Einwirkungen oder des Parasitenbefalls erörtert und die noch sehr lückenhaften Kenntnisse, namentlich auch in der Biologie der Schädlinge, angedeutet. Braun (Berlin-Dahlem).

Cameron, T. W. M., The economic importance of parasitology. (Scientific Agriculture. Vol. 14. 1934. p. 540—546.)

Verf. gibt an Hand einer Reihe von Beispielen einen Überblick über die Bedeutung der Parasitologie, wobei er unter Parasiten nur tierische Organismen versteht, die auf oder in anderen Organismen leben und dort irgendwelche Veränderungen chemischer oder physikalischer Art ohne Rücksicht auf deren Ausmaß verursachen. Diese Erkenntnis hat zur Errichtung des Instituts für Parasitologie an der McGill-Universität in Kanada geführt, über dessen Organisation und Einrichtungen einige Angaben gemacht werden. Braun (Berlin-Dahlem).

Schädigungen der Pflanzen durch physikalische, chemische und physiologische Einflüsse.

Schreven, D. A. van, Uitwendige en inwendige symptomen van boriumgebrek bij tabak. (Äußere und innere Symptome von Bormangel bei Tabak.) (Tijdschr. over Plantenz. H. 4 und 5. 1934. S. 97—122, 3 Taf.)

Verf. gelang es, sowohl mittels Wasser- wie Glassandkulturen, nachzuweisen, daß Bor für die Tabakpflanzen ein unentbehrliches Element ist, dessen Mangel in Sumatra (Deli) die als „Topziekte“ bekannte Krankheit hervorruft. Die Krankheit äußert sich in den verschiedenen Altersstufen verschieden. Bei ganz jungen Pflänzchen entwickelt das Wurzelsystem sich nur unvollkommen, indem der Vegetationspunkt der Wurzeln abstirbt. Im weiteren Verlauf der Krankheit sterben die Achselknospen ab und es tritt

eine Stauchung auf, wodurch die Pflanzen klein und gedrungen bleiben. Durch Vergrößerung der Mesophyllzellen nimmt das Parenchymgewebe der Blätter an Dicke zu und wölbt sich nach oben, während die Ränder und Spitzen sich nach unten biegen. Inwendige Anzeichen von Bormangel äußern sich u. a. zuerst in den Initialzellen und im Procambium der jungen Wurzeln, später auch in der procambialen Zone des Vegetationspunktes des Stengels. Nachdem das ganze Wurzelsystem befallen ist, stirbt der Gipfel der Pflanze ab, ohne jedoch abzufallen, wie das manchmal in Deli der Fall ist. Sämtliche anatomischen Abweichungen werden in dieser Arbeit genau beschrieben.

van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Christensen, J. J., Nonparasitic leaf spots of barley. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 726—742, 6 figs.)

Verf. beobachtete in Minnesota vielfach Blattflecken an Gerste, die denen durch Helminthosporium oder andere Pilze verursachten sehr ähnelten. Erreger konnten jedoch nicht festgestellt werden. Alle Anzeichen deuten darauf hin, daß die Erscheinungen teilweise vererblich sind, teilweise jedoch auf ungünstige Ernährung oder auf das Vorhandensein giftiger Substanzen im Boden zurückzuführen sind. Durch 20 verschiedene Mittel, die dem Boden zugesetzt wurden, konnten Blattflecken nicht hervorgerufen werden mit Ausnahme vom Bor, das als Borsäure oder als Natriumborat gegeben, ähnliche Flecke wie Helminthosporium sativum hervorrief. Gerstenblätter, die durch Bor geschädigt waren, erwiesen sich nicht empfänglicher für H. sativum oder resistenter gegen Erysiphe graminis. Die Blattflecken konnten nicht durch Beizung des Saatgutes, nicht durch Zugabe von Kalk, Kupfer, Magnesium und andere Substanzen zum Boden, nicht durch Spritzen mit Mangansulfat und Eisenchlorid und nicht durch Stäuben mit Kolodust bekämpft werden. Von 125 untersuchten Gerstensorten waren einige immer krank und einige immer gesund, während andere sich verschieden verhielten. Bei einigen erschien die Krankheit im Sämlingsstadium, bei anderen dagegen später.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und filtrierbare Vira.

Richardson, J. K., Eggplant wilt. (Scientific Agriculture. Vol. 14. 1933. p. 120—130.)

Verf. hat die Welkekrankheit von Solanum melongena näher untersucht, die bislang auf Verticillium albo-atrum zurückgeführt worden ist. Er beschreibt die Symptome der Krankheit und glaubt auf Grund der reichlichen Sklerotienbildung des aus allen Teilen der kranken Pflanze einschließlich der Samen isolierten Pilzes, daß es sich um V. dahliae Kleb. handelt, der häufig auch in die Spezies V. albo-atrum eingeschlossen wird. Untersuchungen über den Einfluß der Temperatur ergaben, daß der Pilz im Bereich von 8—34° zu wachsen vermag. Das Optimum liegt zwischen 21 und 40°. Die Krankheitssymptome traten bei Temperaturen von 11—30° auf. Die optimale ph-Zahl wird mit 5,4 angegeben, während Entwicklung zwischen 2,3 und 9 festgestellt werden konnte. Die Düngung ließ keinen Einfluß auf die Krankheit erkennen. Dagegen übte eine Sublimatlösung, vor dem Aussetzen der Pflanzen dem Boden gegeben, im Gewächshaus wie im Freiland deutlich eine hemmende Wirkung aus. Aus dem Freiland isolierte Mikroben, die in vitro die Entwicklung des Parasiten hemmten, ließen eine solche teilweise auch bei Zugabe zum Boden erkennen,

so daß Verf. empfiehlt, die biologische Bekämpfung einer weiteren Prüfung zu unterziehen. Braun (Berlin-Dahlem).

Sanfod, G. B., A preliminary note on an unreported root-rod of oats. (Scientific Agriculture. Vol. 14. 1933. p. 50—51.)

Verf. berichtet über eine Wurzelfäule bei Hafer, die er 1933 weit verbreitet in Edmonton (Kanada) beobachtet hat und deren Symptome er genau beschreibt. Sie tritt vor allem an 4—8 Wochen alten Pflanzen auf und äußert sich in einem Welken der unteren Blätter, die sich hellbraun bis rötlich verfärben. Nach der Bildung der Kronenwurzeln können solche Pflanzen sich wieder etwas erholen, bleiben aber dauernd in ihrer Entwicklung gehemmt. Häufig laufen auch die Halmknoten rot an, und der untere Teil des Halmes neigt sich zur Seite. Verf. vermutet als Ursache einen Pilz, den er in ständiger Vergesellschaftung mit der Erscheinung fand und der vielleicht mit Gliocladium roseum identisch ist. Braun (Berlin-Dahlem).

Goß, R. W., A survey of potato scab and Fusarium wilt in western Nebraska. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 517—527.)

Verf. sucht durch seine Versuche zu ermitteln, in welchem Maße die Infektion mit Schorf und Fusariumwelke bei Kartoffeln vom Boden aus erfolgt. Die Versuche wurden in West-Nebraska mit Kartoffeln durchgeführt, die an einer Stelle mit Formaldehyd 1 : 200 bei einer Temperatur von 51,5° C (125° F) 4 Min. lang gebeizt und dann an 100 Stellen versandt wurden. Auf 10,5 % der Felder trat schwacher, auf 12,5% mittlerer und auf 1,4% starker Schorfbefall auf, dazu zeigte sich auf 30% der Felder Oberflächenschorf. Auf 94% der Felder wurde Fusariumwelke beobachtet. Der Befall betrug durchschnittlich 4,5%, davon war die Hälfte stark befallen. Hoher Befall wurde begünstigt durch Hackfrüchte und Brache im vorhergehenden Jahr, durch Aufeinanderfolgen von Kartoffeln innerhalb 4 Jahren, durch Absinken des pH-Wertes von 8,25 auf 5,92, durch schweren Lehmboden und durch große Mengen von Actinomyzes im Boden. Zusammenhänge zwischen Vorhandensein von organischer Substanz, Niederschlägen, Temperatur und Schorf konnten nicht beobachtet werden. Beziehungen zwischen äußeren Einflüssen und dem Auftreten von Fusarium konnten nicht festgestellt werden. Es zeigte sich lediglich, daß das Auftreten bei Leguminosen als Vorfrucht geringer war als bei anderer Vorfrucht.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Mc. Laughlin, A. M., A Fusarium disease of Cereus schottii. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 495—506, 3 figs.)

Von erkrankten Stellen von Cereus schottii konnte ein Fusarium isoliert werden, das im allgemeinen F. oxysporum glich, sich aber von diesem besonders dadurch unterschied, daß die Makrokonidien kleiner und die Sporen zum erheblichen Teil 4- oder 5 mal septiert waren. Künstliche Infektionen hatten Erfolg. Die infizierten Pflanzen zeigten Verfärbungen der Gefäße und der angrenzenden Zellen. Das Verfärben der Gewebe an den Zellen, die Hyphen des Pilzes enthalten, bringt Verf. zu der Annahme, daß vom Pilz giftige Substanzen ausgeschieden werden. Den Beweis glaubt er dadurch zu erbringen, daß sich in den Gefäßen eines Stengelstückes von Cereus schottii, das in ein Filtrat von einer Kultur von dem isolierten Erreger gestellt wurde, ebenfalls Verfärbungen zeigten.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Taubenhaus, J. J. and Ezekiel, W. N., Fusarium wilt and corm rot of Freesias. (Botanical Gazette. 95. 128. 1934.)

Bei der Kultur der in einigen Staaten von U.S.A. in großen Mengen als Schnittblumen in den Handel gebrachten Freesea tritt häufig eine Krankheit auf, die durch eine Reihe von Fusarium-Arten hervorgerufen wird. Die Blätter vergilben und verwelken, die Wurzeln und vor allem die Wurzelknollen unterliegen einer Trockenfäule. Das Krankheitsbild wird genau beschrieben. Verff. isolierten aus erkrankten Knollen vier Fusarium-Arten: F. bulbigenum, F. martii-minus, F. moniliforme und F. solani, die gesunde Pflanzen zu infizieren vermochten. Die Knollenfäule konnte aber auch durch Arten hervorgerufen werden, die von anderen Fusarium-kranken Pflanzen stammten. So entstand das gleiche Krankheitsbild durch Impfung mit F. conglutinans von Kohlpflanzen und mit F. lycopersici von Tomaten. Weniger schädlich wirkten F. vasinfectum von Baumwollpflanzen, F. niveum von Wassermelonen, F. batatatis von süßen Kartoffeln und einige andere. Die Verbreitung erfolgt durch kranke Knollen, infizierte Pflanzenrückstände und durch den Boden. F. solani und F. martii-minus befielen auch die Zwiebeln von Allium cepa, nicht dagegen F. moniliforme und F. bulbigenum. Alle vier zuletzt genannten Arten riefen bei der mit Freesea nahe verwandten Gladiolus ebenfalls Knollenfäule hervor.

Engel (Berlin).

Went, Joh. C., Fusarium aantastingen van erwten. (Fusarium-Befall bei Erbsen.) Dissertation, Drukkerij Hoeijenbos & Co., Utrecht. 77 S. 1934.

Verf.n untersuchte die durch Fusarien verursachte Sankt Johannis-Krankheit der Erbsen. Diese Krankheit, welche meist zuerst Ende Juni auftritt, befällt stellenweise die Erbsenfelder, wodurch die Pflanzen gelb werden und absterben. Von verschiedenen Autoren wurden nach und nach verschiedene Fusarien aus den kranken Pflanzen isoliert und für die Krankheit verantwortlich gemacht. Verf.n isolierte ebenfalls mehrere Fusariumarten und stellte Infektionsversuche auf Erbsen in Töpfen mit tonhaltiger Erde mit denselben an, wobei die Wurzeln mittels inzwischen auf gekochtem Reis gezüchteten Fusarien infiziert wurden. Als am meisten virulent erwiesen sich folgende Fusarium-Arten: Fusarium solani var. striatum (Sherb.), Wr, Fusarium solani var. Martii (App. et Wr) Wr und Fusarium oxysporum Schl. Andere Fusarien als Fusarium solani var. medium Wr, Fusarium equiseti (Cda) Sacc., Fusarium herbarum (Cda) Fr., Fusarium herbarum var. viticola (Thüm.) Wr und Fusarium anguioides Sherb. zeigten eine schwächere Wirkung auf die Pflanzen.

Weiter wurde durch Versuche festgestellt, daß eine Periode mit größeren Niederschlägen im Frühjahr die Entwicklung der Krankheit begünstigt. Ein Einfluß der Temperatur bei der Auspflanzung konnte für die sowohl in Warm- wie in Kalthäusern gezogenen Erbsenpflänzchen in bezug auf Anfälligkeit zwar festgestellt werden, jedoch ließen sich allgemeine Richtlinien für die Anzucht der Erbsen daraus nicht herleiten. Von den untersuchten Erbsen-Varietäten erwiesen sich alle mehr oder weniger für Fusarium empfindlich. Es ergab sich, daß die Fusarien durch die Epidermiszellen und Wurzelhaare in die Wurzeln eindringen, wobei vorhergehende Verwundungen nicht notwendig sind. van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Carter, F. M., Investigation of factors affecting advance of certain „apple-spot" fungi within the host tissue. (Annals of Botany. Vol. 48. 1934. p. 363.)

Es wurde der Einfluß wechselnder Mengen von Apfelsäure, Glukose, Fruktose, Saccharose und Asparagin auf die Wachstumsgeschwindigkeit verschiedener für das Fleckigwerden der Äpfel verantwortlichen Pilze untersucht. Es handelte sich um einige Pleospora-, Polyopeus- und Alternariaarten sowie um Fusarium fructigenum. Es zeigte sich, daß je nach der qualitativen und quantitativen Zusammensetzung des Mediums der eine oder der andere Pilz sich stärker entwickelte, und daß der unterschiedliche Befall von Äpfeln verschiedenen Alters bzw. verschiedener Sorte höchstwahrscheinlich mit ihrem jeweiligen Säure-, Kohlehydrat- und N-Gehalt in Verbindung zu bringen ist. Engel (Berlin).

Plakidas, A. G., The mode of infection of Diplocarpon carliana and Mycosphaerella fragariae. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 620—634, 4 figs.)

Infektionen mit Diplocarpon carliana und Mycosphaerella fragariae zeigten, daß die Infektionen bei beiden Pilzen von der Blattunterseite her erfolgen. Histologische Untersuchungen ergaben, daß bei Diplocarpon der Keimschlauch durch die epidermalen Zellen eindringt. Ein Eindringen durch die Spaltöffnungen wurde nicht beobachtet. Wenn die Keimschläuche die Mesophyllzellen erreicht haben, verzweigen sie sich und wachsen zwischen diese Zellen, bevor sie die Pallisadenschicht und die Epidermis der Oberseite erreichen. Haustorien wurden gefunden und zwar in den Stielen mehr als in den Blattzellen. Mycosphaerella dringt durch die Spaltöffnungen ein. Bei den untersuchten 6 Sorten konnte eine Beziehung zwischen Zahl der Spaltöffnungen und Resistenz gegen Mycosphaerella nicht festgestellt werden. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Seth, L. N., Studies in the genera Cytosporina, Phomopsis and Diaporthe. V. Analysis of certain chemical factors influencing fungal growth in the apple. (Annals of Botany. Vol. 48. 1934. p. 69.)

Die umfangreichen Untersuchungen des Verf.s ergaben, daß Apfelsäure, Glukose, Fruktose und Saccharose, den obengenannten Pilzen auf künstlichem Nährsubstrat allein oder gemischt und in wechselnden Mengen gegeben, die Wachstumsgeschwindigkeit in sehr verschiedener Weise beeinflußten. Einzelheiten können hier nicht genannt werden. Steigende Säure- und Zuckermengen hemmten allgemein das Wachstum, doch waren auch bemerkenswerte Ausnahmen von dieser Regel zu verzeichnen. Für den sehr unterschiedlichen Befall von Äpfeln durch die genannten Pilze war damit höchstwahrscheinlich die chemische Zusammensetzung der Äpfel verantwortlich. Wurden Apfelsäure, Kohlehydrate und Asparagin dem Nährsubstrat in den Mengen zugesetzt, wie sie in den Äpfeln vorgefunden wurden, ergab sich für die Wachstumsgeschwindigkeit der Pilze auf dem künstlichen Substrat und für die Intensität des Befalls der Äpfel die gleiche Rangordnung. Auf diesem Wege konnte auch wahrscheinlich gemacht werden, daß die stärkere Anfälligkeit älterer Äpfel im Vergleich zu jüngeren und noch unreifen auf den geringeren Säuregehalt der ersten zurückgeführt werden muß.
Engel (Berlin).

Tiddens, B. A., Über die Wurzelfäule der Primula obconica, verursacht durch Thielaviopsis basicola Ferraris. (Phytopath. Zeitschr. Bd. 7. 1934. S. 223—230.)

Chlorotische Erscheinungen an Primula obconica können durch verschiedene Ursachen entstehen. Eine der wichtigsten ist die Wurzelfäule, deren Krankheitsbild der Verf. beschreibt. Von den erkrankten Wurzeln läßt sich der Erreger Thielaviopsis basicola leicht isolieren. Alle Versuche, Perithezien in Kultur zu erhalten, schlugen fehl. Die Zusammengehörigkeit der letzteren, die im Freiland auf kranken Wurzeln sowie an Pflanzen gefunden wurden, die in künstlich mit einer Konidien- und Chlamydosporenkultur infizierter Erde gezogen waren, konnte deshalb nicht nachgewiesen werden. Das Temperaturoptimum für das Wachstum des Pilzes wurde mit 24—25° C ermittelt. Starke Infektion erfolgte, wenn die mittlere Temperatur zwischen 21 und 27° lag. Bei ph 5,2 entwickelte sich der Pilz gut, bei ph 3,2 nur noch sehr langsam. Der optimale ph-Wert für die Wirtspflanze ist etwa 6,4. Bei ph 5,6 und 6,4 wird die Pflanze stark angegriffen. Der Befall wird weiter begünstigt durch Festdrücken der Erde. Außer P. obconica erwies sich auch P. malacoides als anfällig. A s Bekämpfungsmaßnahme wird Bodeninfektion mit Formalin und Uspulun 10 Tage vor Bepflanzung empfohlen. Braun (Berlin-Dahlem).

Neal, R. C., and Wester, D. E., An undescribed Sclerotium fungus prevalent in northeast Texas. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 528—533, 4 figs.)

Verf. fand auf in der Erde faulenden Wurzeln, Stengeln und Blättern von Baumwolle einen Pilz, der sich von Phymatotrichum omnivorum unterschied und als Ozonium texanum sp. nov. eingehend beschrieben wird. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Young, P. A., Stem canker of hollyhock caused by Sclerotinia sclerotiorum. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 538—543, 2 figs.)

Als Erreger eines Krebses bei Althaea rosea wurde Sclerotium sclerotiorum festgestellt. Die Krankheitssymptome werden eingehend beschrieben. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Fitzpatrick, R. E., The life history and parasitism of Taphrina deformans. (Scientific Agriculture. Vol. 14. 1934. p. 305—306.)

Trotzdem der Erreger der Blattkräuselkrankheit des Pfirsichs, Taphrina deformans (Fcl.) Tul. schon oft Gegenstand von Untersuchungen gewesen ist, ist manches in seiner Biologie noch nicht geklärt. Verf. hat auf 3 Fragen besonders sein Augenmerk gerichtet: die Beziehungen zwischen Witterung und Frühjahrsauftreten der Krankheit, die genauen Entwicklungsbedingungen der Sporen und den Verlauf der Infektion. Sorgfältige Spritzversuche zeigten, daß die Infektion im Frühjahr eintritt, unmittelbar nachdem die Blattknospen sich entfaltet haben. Sommerinfektion tritt, wenn überhaupt, nur selten in Niagara auf. Die Askosporen überdauern Sommer und Winter auf den Zweigen und Knospen und werden von hier aus auf die sich öffnenden Blattknospen durch den Frühjahrsregen herabgewaschen. Das Eindringen in das Blatt kann von Ober- und Unter-

seite durch die Kutikula hindurch erfolgen. Von der Kutikula aus dringt der Pilz zwischen den Epidermiszellen vor. Das Myzel ist anfangs sehr dünn und ohne Querwände, später wesentlich dicker mit zahlreichen Querwänden. Die befallenen Gewebe werden hypertrophisch. Schließlich werden noch genauere Angaben über die Vorgänge bei der Kernteilung und die Bewegung der Kerne gemacht. Ein vollständiger Entwicklungszyklus kann von einer einzelnen Spore seinen Ausgang nehmen und bedarf nicht der Kopulation von zwei, wie es für Taphrina epiphylla und T. Klebahni nachgewiesen ist. Braun (Berlin-Dahlem).

Hassebrauk, K., Die Bedeutung der Bodenfeuchtigkeit für das Verhalten von Puccinia graminis und Puccinia triticina auf verschiedenen Weizensorten. (Phytopath. Zeitschr. Bd. 7. 1934. S. 259—269.)

Verf. will die Frage beantworten, ob zwischen dem Feuchtigkeitsgehalt des Bodens bzw. den Feuchtigkeitsansprüchen einer Weizensorte und ihrem Verhalten gegen Puccinia graminis und P. triticina Zusammenhänge bestehen. Er hat Keimpflanzen infiziert, die in Gefäßen herangezogen sind, deren Erde zu 25, 50, 75% ihrer wasserhaltenden Kraft mit Wasser gesättigt waren und konstant auf diesem Wassergehalt gehalten wurden. In den Infektionsversuchen mit P. graminis trat mit zunehmendem Wassergehalt in gesteigertem Maße Chlorose auf und war eine höhere Resistenz zu beobachten. Dagegen konnte keine Parallele zwischen den Feuchtigkeitsansprüchen einer Sorte und ihrem Rostverhalten bei verschiedener Bodenfeuchtigkeit gefunden werden. Die Ergebnisse mit P. triticina wichen insofern hiervon ab, als höchster Befall sowohl bei geringster als auch bei höchster Wassersättigung gefunden wurde.

Braun (Berlin-Dahlem).

Gaßner, G. und **Kirchhoff, H.**, Versuche zur Bekämpfung des Weizenflugbrandes mittels Benetzungsbeize. II. Mitteilung. (Phytopath. Zeitschr. Bd. 7. 1934. S. 272—284.)

In Fortführung ihrer Untersuchungen zur Bekämpfung des Weizenflugbrandes mittels Benetzungsbeize haben die Verff. vor dem eigentlichen Beizgang eine Vorquellung bei gewöhnlicher Temperatur eingeschaltet. In drei Versuchsreihen konnte festgestellt werden, daß der Flugbrandbefall mit zunehmender Vorquelldauer und Beizdauer abnimmt, wobei sich die Wirkungen von Vorquellung und Beizung addieren. Verlängerung der Beizdauer bewirkte auch Steigerung der Beizschäden; dagegen nahmen diese bei gleichzeitiger Erhöhung der Beizwirkung ab, wenn die Vorquelldauer verlängert wurde. Die Vorquelldauer beeinflußt also Keimverhalten und Flugbrand in entgegengesetztem Sinne. Das erklärt sich, wie besondere Erhebungen ergeben, daraus, daß die Keimschäden dem Wassergehalt des Embryos parallel gehen. Dieser fällt aber mit zunehmender Vorquelldauer ab, weil das von dem Embryo aufgenommene Wasser an das Endosperm weitergeleitet wird. Braun (Berlin-Dahlem).

Gaßner, G. und **Kirchhoff, H.**, Versuche zur Bekämpfung des Gerstenflugbrandes. (Phytopath. Ztschr. Bd. 7. 1934. S. 303—314.)

Verff. haben festgestellt, daß die Bekämpfungsverfahren gegen Weizenflugbrand durch Zusatz von Alkohol und durch Einführung des Warm-

benetzungsverfahrens sich verbessern lassen. Sie haben deshalb entsprechende Versuche mit Friedrichswerther Berg- und Carstens zweizeiliger Wintergerste zur Bekämpfung des Gerstenflugbrandes durchgeführt. Auch in diesem Fall konnte die Wirkung der Beizung durch Zusatz von Alkohol zur Beizflüssigkeit ganz wesentlich gesteigert werden, und ebenso erwies sich das Warmbenetzungsverfahren als erfolgreich. Für die Tauchbeize wird eine dreistündige Behandlung mit einer 2 proz. Brennspiritu slösung bei einer durchschnittlichen Temperatur von 41—43° vorgeschlagen, für die Warmbenetzungsbeize einstündige Behandlung von 50—52° nach Benetzung mit 5 l einer 3 proz. Brennspirituslösung je Zentner.

Braun (Berlin-Dahlem).

Gaßner, G. und Franke, W., Über den Einfluß der Temperatur auf Stickstoffhaushalt und Rostresistenz junger Getreidepflanzen. (Phytopath. Ztschr. Bd. 7. 1934. S. 315—326.)

Zur Prüfung der Frage nach der Bedeutung des Eiweißgehalts für die Resistenz gegenüber Rost haben Verff. den Gehalt an Eiweißstickstoff und an löslichen Stickstoffverbindungen sowie das Verhältnis dieser beiden Werte zueinander an Pflanzen von 6 Weizen- und 2 Roggensorten nach Anzucht bei verschiedenen Temperaturen im gleichen Entwicklungsstadium ermittelt. Sie konnten feststellen, daß der Eiweißgehalt mit abnehmender Temperatur stark ansteigt, während die löslichen Stickstoffverbindungen im Durchschnitt eine unbedeutende und vielfach schwankende, verschiedentlich auch überhaupt keine Zunahme erfuhren. Da mit sinkender Temperatur auch die Anfälligkeit gegen verschiedene Rostarten steigt, kommen sie zu dem Schluß, daß diese Resistenzänderungen mit den Verschiebungen des Eiweißgehalts in Verbindung stehen. Braun (Berlin-Dahlem).

Gaßner, G. und Straib, W., Experimentelle Untersuchungen zur Epidemiologie des Gelbrostes (Puccinia glumarum [Schm.] Erikss. und Henn.). (Phytopath. Zeitschr. Bd. 7. 1934. S. 285—302.)

Verff. haben in früheren Untersuchungen festgestellt, daß das Resistenzverhalten des Weizens gegen Gelbrost in erster Linie von den jeweiligen Temperaturen abhängt. Sorten, die bei tiefen Temperaturen gleichmäßig hoch anfällig sind, zeigen sich teils schon bei 15°, in anderen Fällen erst bei 20° oder bei noch höheren Temperaturen resistent oder immun. Da diese Ergebnisse sich auf die Versuche mit nur einer Rostrasse von P. glumarum gründen, haben Verff. erneut den Einfluß der Temperatur unter Verwendung von 4 Rassen (Nr. 2, 4, 7, 9) und 31 Weizensorten nachgeprüft. Dabei haben sie wiederum feststellen können, daß die höheren Temperaturen bei den meisten Sorten Gelbrostresistenz auslösen. Die einzelnen Sorten verhalten sich aber verschieden. Es gibt auch solche, die auch noch bei hohen Temperaturen starken Gelbrostbefall aufwiesen (z. B. Heines Kolben, Carstens Dickkopf V). Das durch die Temperatur bedingte Ansteigen der Resistenz in den Sommermonaten wird als Sommerresistenz bezeichnet. Außer der Sorte ist für die Resistenzänderung auch die Rostrasse maßgebend. So vermögen besonders die Rassen 1, 7, 9 auch bei hohen Temperaturen Befall hervorzurufen, was bei der Bewertung der Rostrassen neben ihrer Verbreitung zu berücksichtigen ist.

Braun (Berlin-Dahlem).

Greaney, F. J., Field experiments on the prevention of cereal rusts by sulphur dusting (1930—1933). (Scientific Agriculture. Vol. 14. 1934. p. 496—511.)

Verf. berichtet über das Ergebnis dreijähriger, in den Jahren 1930 bis 1932 in Winnipeg (Manitoba) durchgeführter Feldversuche über die Bekämpfung des Getreiderostes mit staubförmigen Mitteln. Er kommt zu dem Ergebnis, daß Puccinia graminis und P. triticina auf Weizen und Hafer durch Schwefelbestäubung zur rechten Zeit und in der richtigen Dosierung fast vollkommen unterdrückt werden. Die Bestäubung erfolgte im Abstand von 5 Tagen während einer Zeitspanne von 4—5 Wochen mit jedesmal etwa 34 kg ha. Am besten hat sich Kolodust bewährt, ein fein verteiltes Schwefelpräparat. Die Wirkung nimmt mit der Feinheit des Schwefels zu. Es konnten Ertragssteigerungen bis zu 400% erzielt werden. Auch die Kornqualität erfuhr eine wesentliche Verbesserung, wie das Gewicht je Hohlmaßeinheit zeigt. Die Behandlung wirkte gleichzeitig auch auf andere Krankheitserscheinungen hemmend, wie Blatt- und Stengelfleckungen, Weizenschorf, Schwärze. Verf. empfiehlt diese Art der Bekämpfung namentlich für Versuche, Saatzuchten und in besonders gefährdeten Gegenden. Braun (Berlin-Dahlem).

Bird, J. N., Influence of rost injury on the vigour and yield of thimothy. (Scientific Agriculture. Vol. 14. 1934. p. 550—559.)

Da die Ansichten über das Ausmaß der durch Puccinia graminis phlei-pratensis (Erikss. et Henn.) S. u. P. verursachten Schäden stark auseinandergehen, hat Verf. Beobachtungen an Einzelpflanzen von 116 verschiedenen Stämmen durchgeführt. Zunächst fiel die hohe Anfälligkeit der skandinavischen Herkünfte auf. Die Mehrzahl aller geprüften Stämme zeigt dagegen eine deutliche Resistenz als Folge der züchterischen Bearbeitung. Vollkommen frei von Befall war freilich kein einziger, wie überhaupt auch innerhalb der einzelnen Stämme alle Befallsgrade festzustellen waren, was Verf. außer auf den Einfluß der Außenfaktoren auf unterschiedliche Anfälligkeit der Einzelpflanzen zurückführt. Zwischen der Entwicklung des Parasiten auf der Wirtspflanze und der Schädigung dieser braucht nicht immer eine Parallele zu bestehen, was Verf. ebenfalls genetisch erklären möchte. Im großen Durchschnitt führte zunehmender Befall aber zu zunehmenden Ertragsausfällen, die auf $^1/_{10}$—$^1/_{20}$ der gesunden Pflanzen zurückgingen. Braun (Berlin-Dahlem).

Hruby, J., Mykologische Beiträge aus der West-Slowakei. (Österr. Botan. Ztschr. Bd. 83. 1934. S. 62.)

Verf. beobachtete folgende in der Slowakei bisher nicht festgestellte Pflanzenschädlinge: Im Inovecgebirge Puccinia constricta auf Teucrium montanum sowie Tuburcinia primulae auf Primula pannonica; im Rajecer Gebirge die auf Hieracium villosum spezialisierte Form von Puccinia hieracii.

Engel (Berlin).

Hanna, W. F., and Popp, W., Bunt infection of spring wheat by soil-borne spores. (Scientific Agriculture 1934. Vol. 14. p. 257—258.)

Verff. konnten abermals feststellen, daß Sporen von Tilletia tri-

tici aus Weizenähren, die während des Winters auf der Bodenoberfläche gelegen hatten, besser keimten als die aus Ähren, die 15 cm tief eingegraben waren. Infektionsversuche mit Sporen, Brandbutten und Brandähren, mit denen Freilandparzellen im Herbst verseucht waren, erbrachten bei Weizen, der mit Formalin behandelt war, eine Anzahl von Brandpflanzen.

Braun (Berlin-Dahlem).

Jones, L. K., Anderson, E. J., and Burnett, G., The latent virus of potatoes. (Phytopath. Ztschr. Bd. 7. 1934. p. 93—119.)

Die Untersuchungen dienten zunächst dem Nachweis des X- oder latent-Virus in nordamerikanischen Kartoffelherkünften. Das Verfahren bestand darin, daß die Blätter von jungen Tabakpflanzen der Sorte „Connecticut Havana" und der Tomatensorte „John Baer" mit den Preßsäften von Kartoffelblättern eingerieben wurden. Es wurden die Symptomstufen „Mottling", „Ringing" und „Spot netrosis" unterschieden, bei den Tomateneinreibungen, die z. T. in Kombination mit dem gewöhnlichen Tabakmosaikvirus Nr. 1 ausgeführt wurden, außerdem noch „streak". Das „Ringing" wurde nach Bedarf noch in schwaches und starkes „Ringing" unterteilt. Es zeigte sich, daß das Virus in sämtlichen geprüften 1079 augenscheinlich gesunden Pflanzen verschiedener Marktsorten enthalten war, außerdem in 188 offensichtlich kranken Pflanzen, die noch andere Viren enthielten. Aus den augenscheinlich gesunden Pflanzen wurde zumeist das weniger virulente Mosaik gewonnen, z. T. aber auch ein stärkeres, wie es ähnlich bei Abreibungen von „rugose-mosaic"-krankem Material gefunden wird. In aufeinanderfolgenden Weiterimpfungen auf Tabak wurde vielfach eine Verstärkung der Symptome beobachtet, die von den Verff. als Virulenzsteigerung gedeutet wird. Solche gekräftigten Viren erzeugten bei Rückimpfung auf Kartoffeln die Symptome des „Rugose Mosaic". Nach der Passage durch Nicandra physaloides, Datura stramonium, Amaranthus retroflexus und Solanum nigrum wurde das Virus in seiner starken und schwachen Form wieder erhalten. Es zeigte sich, daß das Virus in seiner virulenteren Form auf der Kartoffel das gleiche „rugose mosaic" verursachen kann wie in Kombination mit dem Veinbanding-(Y-)Virus.

E. Köhler (Berlin-Dahlem).

Davies, W. M., Studies on aphides infesting the potato crop. II. Aphis survey: its bearing upon the selection of districts for seed potato production. (Ann. Appl. Biology. Vol. 21. 1934. p. 283.)

Als Überträger des Blattroll- und des Y-Mosaik-Virus spielt die Blattlausart Myzus persicae eine hervorragende Rolle bei der Verursachung des sog. Kartoffelabbaus. Verf. untersuchte die Verbreitung dieses Insekts in den Jahren 1928 bis 1933 in Nord-Wales auf 5 von 15 ursprünglich zur Kartoffelpflanzgutgewinnung in Aussicht genommenen Vermehrungsstellen. Von den 5 Stellen sollten sich 3 (D, F und G) zur Pflanzgutproduktion als geeignet, zwei (I und J) als ungeeignet erweisen; bei den ersteren war während der ganzen Beobachtungszeit keine Zunahme an Viruskrankheiten festzustellen, während bei den beiden letzteren schon im dritten Jahr eine starke Zunahme der Virusverseuchung zu beobachten war. Dem entsprach die Feststellung, daß die Kartoffeln an den Stellen D, F und G stets nur von wenigen Läusen beflogen wurden, während an den Stellen I und J geflügelte Läuse in großen Mengen einfielen. Durch sorgfältige 5jährige quantitative

Erhebungen wurden die Beobachtungen belegt. Ökologische Beobachtungen ergaben, daß M. persicae als ungeflügelte Form in beträchtlichen Mengen auf dem Winterkohl, insbesondere dem krausblättrigen „Savoy"-Kohl überwintert. Diese Pflanze stellt in den meisten ländlichen Distrikten von Nord-Wales die Hauptquelle der geflügelten Frühjahrsläuse vor. Die Migrationszeit der geflügelten Laus fällt in Nord-Wales für gewöhnlich auf Anfang Juni, nur wenige geflügelte Läuse findet man im Juli und August, und erst Ende September beginnt die Abwanderung geflügelter Läuse von den Kartoffeln. E. Köhler (Berlin-Dahlem).

Pierce, W. H., Viroses of the bean. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 87—115.)

Bohnen (Phaseolus vulgaris L.) sind für eine Reihe von Viren anfällig, namlich für „Common Bean-mosaic", „Yellow Bean-mosaic", „Alfalfa-mosaic", „ordinary Tobacco-mosaic" und „Tobacco ring-spot". Von diesen ist das erstgenannte das schädlichste und besitzt die größte Verbreitung. Verf. prüfte in Infektionsversuchen 24 verschiedene Bohnensorten auf ihr Verhalten gegenüber den genannten Viren. Dazu wurden die Blätter der jungen Pflanzen mittels Gazestückchen, die mit dem Preßsaft von kranken Pflanzen getränkt waren, eingerieben. Als besonders empfindlich für alle geprüften Viren erwies sich die Sorte Refugee Grant, sie wurde daher als Indikatorsorte zum Nachweis latenter Infektionen benutzt. Gegen das common mosaic waren immun die Sorten Corbett Refugee, Great Northern N I Nr. 1, Robust und Wis. Hybrid Wax Nr. 536, 8 andere waren anfällig, 12 weitere tolerant, d. h. das Virus vermehrte sich in diesen Sorten ebenso leicht wie in den anfälligen, ohne jedoch stärkere Symptome hervorzurufen. In den immunen Sorten vermehrte sich das Virus augenscheinlich überhaupt nicht. Gegen das Yellow mosaic erwiesen sich alle Sorten ± anfällig. Auch den Alfalfa- und Ring spot-Viren waren sämtliche Sorten zugänglich, wenngleich die Widerstandsfähigkeit im einzelnen verschieden war. Beim Alfalfa-Mosaik traten nur Initialsymptome auf den eingeriebenen Blättern auf, Allgemeinerkrankungen blieben dagegen aus. Das Tabakmosaikvirus ließ nur an wenigen Sorten Symptome erscheinen. Die Infektionsbilder werden näher beschrieben. Die Grenzwerte der Infektiosität der Viruspreßsäfte beim Erhitzen, Verdünnen, Einwirkenlassen von Chemikalien und beim Stehenlassen wurden näher bestimmt. Die beiden eigentlichen Bohnen-Mosaikviren werden durch die Blattlausarten Macrosiphum solanifolii und Illinoia pisi übertragen, durch die letztere auch das Alfalfa-Virus. An einem großen Material wurde festgestellt, daß zwar das Common Bean mosaic mit dem Samen übertragen wird, nicht aber das Yellow Bean mosaic. E. Köhler (Berlin-Dahlem).

Abgeschlossen am 7. Dezember 1934.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 91. No. 11|15.
Ausgegeben am 30. Januar 1935.

Studies on Anaerobic Bacteria.

II. Further Extensive Uses of the Vegetable Tissue Anaerobic System.[1])

[From the Department of Agricultural Bacteriology, University of Wisconsin, Madison.]

By **L. S. McClung, Elizabeth McCoy** and **E. B. Fred.**

It is not without knowledge of the many "new methods" for obtaining reduced oxygen tension for surface culture of anaerobes or of novel procedures for applying the old, familiar principles that this paper is written, but rather because of them. Several years ago apology for the introduction of new methods in anaerobic plate technique was trite; yet such continue to be proposed. No doubt each of these possesses some advantage peculiar to the problem in which the author is engaged; yet, in many cases, perhaps even in the majority, the adoption of these as methods for general use, particularly in large series, is unwarranted or often impossible either because of the special apparatus required or of expense of materials.

Some years ago a simple method (vegetable tissue jar [1]) for surface growth of anaerobic bacteria was proposed from this laboratory but for some reason, perhaps obscurity of reference, it has not found wide use. Because of our continued success with this method, and because of improvements and extensions of its use, its re-introduction into the literature is, in our opinion, justified. The method depends upon the fact that living plant tissue, enclosed in a vessel, will respire and exhaust the atmosphere of oxygen. The CO_2 liberated in the process is of itself advantageous as a stimulant to anaerobic growth.

No special apparatus is necessary; any jar or vessel which may be sealed will suffice. We have found tall pyrex cylinders (6 by 18 inches or 12 by 24 inches), with a square of plate glass or a glazed dinner plate sealed onto the jar with plasticine (modeling clay), convenient and practical in routine cultivation. These are, however, quite unnecessary for success. Small tin cans, desiccators, Novy jars, or even inverted bell jars sealed as above, are equally satisfactory and may be used if incubator space is not at a premium.

About one-tenth of the available space is filled with chopped (unpeeled) Irish potatoes; plates, tubes, or bottles are stacked on wire supports above the potatoes. The top is then sealed on and the jar set in the incubator. No further work is necessary—no evacuation or flushing with inert gases; no spilling of chemicals. The time of incubation should vary with the rate of growth of the organisms. In general we have found 48 hours sufficient

[1]) Published with the approval of the Director of the Wisconsin Agricultural Experiment Station.

for colony production; for sporulation a longer period may be necessary. Other vegetables than the potato may be used, although availability and cost are limitations in certain cases. Carrot and cabbage tissue have been successful in our hands; chopped green alfalfa, lettuce, and apple have not been. The jars prepared from certain of the tissues, notably potato, have an objectionable odor, because the plant respiration is complicated by an active bacterial fermentation. To avoid the odor we have lately been experimenting with grains such as oats and barley, as a substitute for potatoes. In these cases sufficient water is added to thoroughly moisten the grains as for germination. This process, is, however, apparently inhibited by the anaerobic conditions as actual sprouting has not been observed. Although this latest improvement has not been used as extensively as the potato tissue, the results which have been obtained indicate that it will be equally satisfactory. It has in addition certain advantages—cleanliness, and ease of storage and handling, absence of odor, low cost, and availability throughout the year.

The vegetable tissue jar is not proposed to replace all other methods of anaerobic culture. Certain limitations at once suggest themselves. For instance, the anaerobic conditions are not immediate: the time required for respiration to produce sufficiently low oxygen tension must vary with the amount and activity of the tissue in relation to the volume of O_2 to be absorbed, perhaps also with the temperature of incubation. For very short incubations (6 to 8 hours) other replacement or chemical absorption systems for anaerobiosis should be used. A further objection which is cited to this method is that respiration produces considerable moisture, which may cause spreading of surface growth. In many cases, as in mass production of cells or long incubation for simple detection of anaerobes, this is no disadvantage. In case discrete colonies are desired, one may take care of the water easily and effectively by using porous tops to the Petri dishes (unglazed porcelain covers, available at most bacteriological supply houses). If porous tops are used, they should simply replace the glass tops, since they may be sterilized in hot air ovens in the usual manner. Their only disadvantage is in being opaque, making pouring of the plates slightly more difficult and obscuring growth during incubation. Studies of the effects of various gases upon growth are obviously impossible in the vegetable tissue jar.

To offset these limitations the vegetable tissue jar has certain advantages, which may best be illustrated by actual instances of use. One extensive application, that was not mentioned in the original paper, and for which we have found either potato or grain jars quite satisfactory, is in incubating cultures at thermophilic temperatures. At the elevated temperatures difficulty is often encountered with the use of jars requiring a grease seal because of leakage at the seal; and gas replacement systems are undesirable due to the occasional explosion, which occurs when the excessive expansion of the gas is not provided for. Respiration in the vegetable tissue develops little, if any, pressure (aside from that of change in temperature, which is not sufficient to break the seal).

To list some of the other purposes for which we have had occasion to employ these jars recently:

1) Single colony purification of over 100 cultures of anaerobic spore-forming bacilli. These have included soil butyric types as Cl. pasteurianum, Cl. acetobutylicum, and Cl. saccharobutyri-

cum, pathogenic anaerobes such as Cl. botulinum, Cl. tetani, Cl. chauvoei, Cl. welchii and others, and a group of thermophilic anaerobes. It should perhaps be mentioned that it had been previously considered particularly difficult or impossible to obtain surface cultures of the last group listed (2). Certainly the cultures tested have included representatives of species reported in the literature as "strict anaerobes".

2) Incubation jars to accommodate 200—300 plates from a laboratory exercise in the isolation and purification of certain anaerobic species.

3) Production of antigen by surface growth for the immunization, in total, of over 125 rabbits. Fresh antigen was used for each injection of the majority of the animals, thus necessitating, at times, continuous series of jars, no one of which could fail without interruption of the immunization process. Sometimes the series were of such nature, as in the production of large amounts of antigen for agglutinin absorption, that large tin cans (2 by 4 feet) were necessary to accommodate the 200 or more bottles to be incubated at one time.

4) Production of mass quantities of cells of the proprionic acid bacteria for enzyme studies.

5) Incubation of 2,500 tubes in differential sugar fermentation studies in the taxonomy of certain of the above named cultures. In this case the base medium plus the sugars did not produce a sufficiently reduced medium for the support or growth of the cultures being tested. Similarly, the method has been used for incubation of flask fermentations in quantitative fermentation studies.

6) Incubation of hundreds of plates necessary in studying the enzymic system of cultures; e. g. gelatin plates (Frazier technique), starch hydrolysis, milk plates, blood agar plates, etc.

It is our opinion that, on the basis of the above examples, the vegetable tissue jar represents one of the simplest and most practical methods for the surface culture of anaerobic organisms.

Summary.

Further uses (with a discussion of the advantages and disadvantages) of the vegetable tissue jar as a means of anaerobiosis for surface culture are cited. It has been shown to be practical at thermophilic temperatures as well as at mesophilic temperatures.

References.

1. Carroll, W. R., and Hastings, E. G., The use of living vegetable tissue for securing a favorable gaseous environment for anaerobic bacteria. (Journ. Lab. and Clin. Med. Vol. 11. 1925. p. 264—265.) — 2. Paine, F., Some observations on thermophilic anaerobes. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 85. 1931. S. 122—129.)

Nachdruck verboten.

Studies on Anaerobic Bacteria.

VIII. The agglutination reactions of Clostridium thermosaccharolyticum.[1])

[From the Department of Agricultural Bacteriology, University of Wisconsin, Madison, Wisconsin.]

By L. S. McClung and Elizabeth McCoy.

In a previous paper of this series (McClung) the morphological and physiological characteristics of a new thermophilic Clostridium were presented. The 27 strains isolated were of widely different origin but were all of the thermophilic group known as the causal agents of the type of spoilage of non-acid canned foods known as "hard swell". They possessed the same morphology, and the singular uniformity of physiological characters led to the conclusion that the cultures investigated were strains of one species. The name Clostridium thermosaccharolyticum was suggested as appropriate for the species. The object of this report is to present the antigenic relations of these strains as shown by the agglutination reaction. The motility of this species is not well pronounced, at least under the conditions chosen for study; stains, however, reveal the presence of peritrichiate flagella.

In a preliminary experiment 5 cultures were chosen at random and antisera prepared according to the methods previously reported (McClung, 1934). Following cross reactions with all stock cultures, it was observed that on any one serum the strains were divided into two groups. The 10 cultures of the first group reacted strongly to full titer of the serum and in these the flocs were large flakes or one loosely bound ball. In the other group of 17 cultures the type of floc changed to small granules or compact flakes throughout the dilution range. This difference was apparently due to the antigenic complex of the cultures (exactly the same technique was used with all strains) as it persisted in different batches of antigen and the grouping was confirmed by the reactions obtained in the 4 remaining sera. By chance, all the sera available were of cultures of the first group. The antigenic identity of the strains of this group was proven by absorption tests (reciprocal where possible). The question then remained as to the nature of the antigenic constitution of the second group.

Believing that the observed differences might be explained by the double receptor hypothesis of Weil and Felix, experiments were designed with this in mind. The following sera were prepared against strain 5 (typical of the first group) and strain 22 (typical of the second group)[2]):

[1]) Published with the approval of the Director of the Wisconsin Agricultural Experiment Station.

[2]) The methods employed in the preparation of the sera and the technique of the tests were identical with those previously reported (McCoy and McClung) with the exception that 1% glucose 1% tryptone broth was used as the culture medium. The temperature of incubation of the cultures was 58° C.

Type	Designation	Preparation of antigen
Somatic.	O	Heat treated whole cells
Flagellar	H	Clear supernatant obtained by mechanically agitating a concentrated suspension of whole cells and long centrifugation to purify
Whole cell	W	Young cultures centrifuged for concentration but not washed or treated with heat or chemicals

Routine cross reactions of the set of stock cultures in the sera thus prepared (W antigen in W and H sera; O antigen in O sera) again revealed the presence of two groups, one of which was not able to react in degree or to full titer comparable to the other. This relation is shown in Table 1. To conserve space only the reactions of strains 5 and 22 are given; these strains are homologous with the sera and are believed to be typical of the groups which they represent.

Table 1. Cross reactions of the W antigen of cultures 5 and 22 in the W and H sera of these cultures.

Serum	Test antigen	Serum dilution								Saline control
		80	160	320	640	1280	2560	5120	10240	
5—W	5—W		+++	+++	+++	+++	+±	±	—	—
	22—W		+	+	+	±	±	—	—	—
5—H	5—W		+++	+++	+++	++	++	±	—	—
	22—W		+	+	±	±	—	—	—	—
22—W	5—W	+++	+++	++±	++±	+±	—	—	—	—
	22—W	++	++	+±	±	±	—	—	—	—
22—H	5—W	+++	+++	+++	+	±	—	—	—	—
	22—W	+	+	±	±	—	—	—	—	—

In a discussion of the antigenic relations of the Salmonella group, White (1929) pointed out that a degradation (loss of heat-labile factor) of a motile strain may proceed by definite stages. To quote his conclusions: "first to disappear is the power to condition coarse flocculation of the bacilli, next the ability to absorb appreciable amounts of flagella agglutinins, and last, the power to stimulate these *in vivo*". In the H or W serum of culture 5 it is evident that culture 22 is deficient in the H factor of culture 5. That culture 22 is in only the first stage of degradation is shown by the fact that it retains the power to absorb agglutinins and by its ability to stimulate agglutinin formation.

The latter ability is shown in the production of sera 22—W and 22—H (Tables 1 and 2). It should be noted that culture 22 is not agglutinated to full extent in its homologous sera even in the low dilutions. Such sera are, however, able to condition the typical large flaking agglutination of the culture 5 type. It is assumed that whatever difference exists between cultures 5 and 22 is in nature quantitative rather than qualitative. The complete removal of agglutinins for both types by absorption of either heterologous or homologous serum with either organisms indicates this conclusion (Table 2).

The reactions obtained in the sera produced against the heat treated cells reveal the similarity of the somatic fractions of these cultures (Table 3). Reciprocal absorption experiments with these sera indicate antigenic identity of the heat stabile fractions as either culture is able to absorb completely all small flaking agglutinins from either serum.

Table 2. Reactions following absorption of W and H antisera with 5—W and 22—W antigens.

Serum	Reaction before absorption: Test culture	Reaction before absorption: Titer and degree	Absorbed by	Reaction after absorption: Test culture	Reaction after absorption: Titer and degree
5—W	5—W	5120 (+++→±)	5—W	5—W	—[1]
				22—W	—
	22—W	2560 (+→±)	22—W	5—W	—
				22—W	—
5—H	5—W	5120 (+++→±)	5—W	5—W	—
				22—W	—
	22—W	1280 (+→±)	22—W	5—W	—
				22—W	—
22—W	5—W	1280 (+++→±)	5—W	5—W	—
				22—W	—
	22—W	1280 (++→±)	22—W	5—W	—
				22—W	—
22—H	5—W	1280 (+++→±)	5—W	5—W	—
				22—W	—
	22—W	1280 (+→±)	22—W	5—W	—
				22—W	—

[1]) (—) means no reaction in 1—80; the lowest dilution tested.

Table 3. Cross reactions of the O antigen of cultures 5 and 22 in the O sera of these cultures.

Serum	Test antigen	Serum dilution: 80	160	320	640	1280	2560	5120	10240	Saline control
5—O	5—O	++	++	++	++	++	+	+	—	—
	22—O	+	±	±	±	±	—	—	—	—
22—O	5—O	++	++	++	++	+±	+	±	—	—
	22—O	++	++	+±	+	+	±	—	—	—

It is realized that in this study one may speak with finality about the complete antigenic constitution of only two cultures of the group of twenty-seven, as sera were not produced for the remaining cultures, and complete reciprocal absorptions were therefore not possible. It is believed, however, that the cultures chosen are entirely typical of the groups which they represent and that further study would not tend to indicate sub-groups as has been the case with agglutination studies of certain other clostridia, e. g., Cl. botulinum and Cl. tetani. In the sera available, cross reactions and reactions of all cultures following the absorption technique with various heterologous strains revealed no difference in the cultures beyond that of the original two groups. Cross reactions with related species have not been possible as authentic representatives of these were not available. Few, if any, such species have been described in the literature. No reaction was

obtained with cultures of thermophilic bacilli dissimilar upon morphological and physiological characteristics to the species of this paper.

Summary.

A study has been made of the antigenic constitution of strains of Clostridium thermosaccharolyticum by means of the agglutination reaction. The application of the technique employing stabilotropic and labilotropic antigens revealed two groups of cultures. A strain typical of one group was found deficient, but not lacking, in the H factor of the "master strain", typical of the other group. Further subdivision of the strains of this species was not indicated. Significant points revealed in this study are:

1) Demonstration of the presence of heat labile and heat stabile antigens in a species not hitherto investigated. The fact that this species is an obligate anaerobe extends the very meager list of clostridia to which the Weil-Felix hypothesis has been applied. It is further unique in presenting, so far as is known, the first instance of this type of study of thermophilic organisms.

2) Successful application of the agglutination reaction in the species identification of an anaerobic bacillus. The use of the agglutination reaction has not generally met with success for this purpose in the study of anaerobes as is indicated by Lehmann and Neumann (1927, p. 628), Hall (1922), and Robertson (1929).

References.

(1) Hall, I. C., Differentiation and identification of the sporulating anaerobes. (Journ. Infect. Diseases. Vol. 30. 1922. p. 445—504.) — (2) Lehmann, K. B., and Neumann, R. O., Bakteriologie, insbesondere bakteriologische Diagnostik. München (Lehmann) 1927. 7. Aufl. 876 S. — (3) McClung, L. S., Production of agglutinins against thermophilic organisms. (Journ. Bact. Vol. 27. 1934. p. 64.) — (4) McClung, L. S., Studies on anaerobic bacteria. IV. Taxonomy of cultures of a thermophilic species causing "swells" of canned foods. (Journ. Bact. In Press.) — (5) McCoy, Elizabeth, and McClung, L. S., Studies on anaerobic bacteria. V. The agglutination reactions of Clostridium acetobutylicum and related species. (Journ. Infect. Diseases. In Press.) — (6) Robertson, M., See A System of Bacteriology in Relation to Medicine. (Gt. Britain, Medical Res. Council. Vol. 3. 1929. p. 284.) — (7) White, P. Bruce, See A System of Bacteriology in Relation to Medicine. (Gt. Britain, Medical Research Council. Vol. 4. 1929. p. 103.)

Eine bakterielle Fäule an Lactuca sativa var. capitata L. und Cichorium endivia L.

[Aus der mikrobiologisch-chemischen Abteilung der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem.]

Von C. Stapp.

Mit 3 Abbildungen im Text.

Ende November 1931 wurden der Biologischen Reichsanstalt Kopfsalat- und Endivienpflanzen aus Mitteldeutschland zugeschickt, die an einer Naßfäule litten. Die Pflanzen waren in „kalten Frühbeetkästen“ gezogen. Einige Blätter mancher Pflanzen waren faulig erweicht, welk und gelb bis tief schwarz verfärbt, bei einzelnen Blättern zeigten sich verschieden große Flecke. Bei anderen Pflanzen war bereits der größte Teil der Blätter verfault als sie ankamen.

Stückchen des Faulgewebes auf dem Objektträger zerkleinert, mit einem Tröpfchen Wasser angefeuchtet und mit Deckglas abgedeckt, ließen unter dem Mikroskop eine ungeheure Menge von Bakterien in dem Faulmaterial erkennen.

In welchem Ausmaß die Krankheit aufgetreten ist und um welche Sorten es sich gehandelt hat, darüber waren Angaben nicht gemacht. Auf eine 1933 an die gleiche Stelle gerichtete Anfrage wurde dann mitgeteilt, „daß die Bakteriose auch im Herbst 1932 in sehr starkem Umfange aufgetreten ist, trotzdem wir für weitmögliche Beseitigung der Feuchtigkeit durch Lüften gesorgt hatten. Solange das Herbstwetter verhältnismäßig hell und windig war, kam die Krankheit kaum zur Entwicklung. Mit Eintritt dunkler, ruhiger und feuchter Witterung jedoch breitete sie sich sehr schnell aus. In diesem Jahr hat die Krankheit sich bisher noch nicht gezeigt, was wir auf die verhältnismäßig sonnige Herbstwitterung zurückführen. Befallen wurden in erster Linie die glattblättrigen Endiviensorten „Goldgelber Eskariol“ und „Grüner Eskariol“. In erheblich geringerem Ausmaße wurden krausblättrige Sorten, wie z. B. „Grüne Mooskrause“ und „Goldherz“ befallen.“

Aus Material von verschiedenen Pflanzen, sowohl Kopf- als Endiviensalat, wurde versucht, die Parasiten herauszuzüchten. In allen Fällen entwickelten sich auf den Bouillon-Agar-Platten in großer Mehrzahl Fluoreszenten, die, in gesunde Salatpflanzen eingeimpft, wieder die gleichen Fäulniserscheinungen hervorriefen; aus den derart künstlich infizierten Pflanzen ließen sich die Erreger reisolieren.

Damit war zwar der Beweis erbracht, daß als Ursache ein Fluoreszent anzusehen ist, und daß es sich demnach bei der Salatkrankheit um eine echte Bakteriose handelte; es war aber noch die Frage zu klären, ob die vorliegende Krankheit mit einer der bereits beschriebenen Salatbakteriosen identisch ist oder nicht. Gerade über die durch Bakterien verursachten Salatkrankheiten ist die Literatur noch recht unübersichtlich. Es sind eine Reihe von bakteriellen Naßfäulen bei Salat beschrieben und für alle etwas eingehender untersuchten wird als Erreger auch ein Fluoreszent angegeben, doch diese Fluoreszenten sollen voneinander verschieden sein,

weshalb teilweise auch die Krankheiten selbst verschiedene Namen erhielten, wie z. B. Louisiana-, Sudkarolina- oder Kansas-Salatkrankheit. Es erübrigt sich, hier auf das ältere Schrifttum ausführlich einzugehen, es ist das von mir im Sorauer bereits geschehen (8). Ergänzend sei hierzu nur erwähnt, daß W. Kotte (5) im Jahre 1930 erstmalig exaktere Angaben über das Auftreten einer Salatbakteriose in Deutschland gemacht hat, und zwar an Winter-Endivien, und ebenfalls einen Fluoreszenten fand, den er, da Abweichungen in seinem physiologischen Verhalten von den anderen bakteriellen Salatparasiten festgestellt wurden, als weitere neue Spezies mit dem Namen Pseudomonas endiviae belegt hat. Dieser Organismus ist Gram-negativ, verflüssigt die Gelatine nicht und bringt Milch nicht zum Gerinnen, es tritt aber später eine Aufhellung ein. Von den früher bekannten Erregern wird Pseudomonas viridilivida Brown als Gram-positives, die Milch ohne vorherige Koagulation peptonisierendes, die Gelatine langsam verflüssigendes Stäbchenbakterium beschrieben, während Pseud. vitians Brown Gram-negativ sein, die Milch erst koagulieren, dann peptonisieren soll und im Verhalten zu Gelatine keine Verschiedenheiten gegenüber dem vorhergenannten Parasiten zeigen soll. Pseud. marginalis Brown wiederum ist ebenfalls Gram-negativ, verflüssigt langsam Gelatine und bringt die Milch zur Gerinnung, ohne sie später zu peptonisieren; ihr thermaler Tötungspunkt liegt mit 52 bis 53° C etwas höher wie der von Pseud. vitians mit 51—52° C (1, 2, 3).

Marg. S. Lacey (6) hat neuerdings einige Fluoreszenten aus Salat isoliert und beschrieben, sie aber nicht benannt. Ihre Stämme Nr. 203, 224, 233, 238 und 248 waren bis auf einige geringe Abweichungen einander gleich. Die Stämme 224, 233, 238 und 248 vermochten die Milch ohne vorherige Koagulation zu peptonisieren, Stamm 203 koagulierte zuvor. 4 Stämme waren nicht in der Lage, Nitrate zu reduzieren, der fünfte Stamm, 238, reduzierte Nitrat schwach zu Nitrit.

Krankheitsbild.

Das Krankheitsbild entspricht im allgemeinen dem, das W. Kotte von der Endivienkrankheit gegeben hat. Ob allerdings die Herzblätter von Endivien dem Angriff des Erregers größere Widerstandskraft entgegensetzen wie die äußeren Blätter, kann nicht gesagt werden, denn sowohl die Kulturen aus Kopfsalat wie aus Endiviensalat erwiesen sich für Kopfsalat pathogen und sind nur an jungen Kopfsalatpflanzen im Gewächshaus geprüft worden.

Erreger.

Hinsichtlich des morphologischen, kulturellen und physiologischen Verhaltens des Erregers — es sei bereits hier erwähnt, daß die aus Kopfsalat gezüchteten Stämme völlig mit denen übereinstimmten, die aus Endiviensalat isoliert waren — machten sich aus den oben dargelegten Gründen eingehende Untersuchungen notwendig. Die Stäbchengröße ist auf ein und demselben Nährsubstrat sehr verschieden. Stäbchen einer 2 Tage alten[1]) Bouillon-Agarkultur besitzen eine Länge von 1—6 μ, die meisten sind aber 1,4—2,8 μ lang und 0,4—0,5 μ dick. Gleichalte Stäbchen von Kartoffelagar

[1]) Wenn nichts anderes angegeben ist, betrug die Bebrütungstemperatur stets + 26° C.

sind 0,8—3,0 μ lang, meist 1,0—2,8 μ lang und 0,4—0,5 μ dick; auf Möhrenagar sind sie durchschnittlich auch etwas kürzer als auf Bouillonagar, meist 1,2—2,2 μ lang, aber 0,5—0,6 μ dick. An Reservestoffen wird nur in vereinzelten Zellen Volutin gebildet. Die Speicherung ist in Stäbchen auf Bouillon- und Möhrenagar sehr gering, ein wenig besser auf Kartoffelagar. Glykogen, Jogen und Fett waren nicht nachweisbar.

Die Schwärmer besitzen ein bis mehrere polare Geißeln (Abb. 1).

Auf Bouillon-Agar: Nach 24 Std. sind die Impfstriche schon kräftig gewachsen, weißlich glänzend und transparent; dennoch heben sich die Beläge gut von ihrer Unterlage ab. Die Fluoreszenz ist, soweit die Schrägfläche reicht, deutlich. Nach 4 Tagen ist ein gleichmäßig über die Oberfläche sich hinziehender Belag entstanden und der ganze Agar grün fluoreszierend. Nach etwa 8—10 Tagen beginnt die Bräunung des Substrates, der Belag selbst bleibt unverändert.

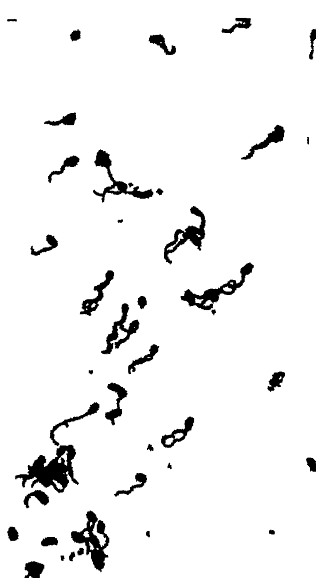


Abb. 1. Salatbakterien mit polaren Geißeln. Vergr. 600 fach.

Auf Kartoffel-Agar ist die Entwicklung nach 24 Std. noch schwächer als auf Bouillon-Agar, die Beläge sind schmutzig weißlich, schleimig, feucht glänzend; nach 4 Tagen ist die Entwicklung kaum stärker. Das Bild ändert sich auch in der Folgezeit nicht.

Auf Möhren-Agar entspricht die Entwicklungsstärke und das Aussehen der Kultur nach 24 Std. denen auf Kartoffel-Agar, wird aber später im unteren Teil etwas dicker schleimig, sonst machen sich Änderungen nicht bemerkbar. Fluoreszenz tritt weder auf Kartoffel-Agar noch auf Möhren-Agar auf.

Auf saurem Würze-Agar findet Wachstum nicht statt.

Im Bouillon-Gelatine-Stich ist bereits nach 24 Std. bei Zimmertemperatur eine 2—4 mm tiefe Schicht verflüssigt, nach 48 Std. zeigt sich Entwicklung längs des Stichkanals und etwa 6 mm tiefe, napf- bis strumpfförmige Verflüssigung; nach 9 Tagen war die Hälfte der Gelatinesäule verflüssigt, auf der Oberfläche hatten sich stark faltige Häute gebildet, ebenso zeigte sich an der Grenzzone eine dicke Bakterien-Auflage. Nach 4 Wochen war die ganze Säule verflüssigt.

Auf Möhren-Scheiben zeigen die Bakterien ein anfänglich glasig-schleimiges Wachstum, die Beläge nehmen dann ein schmutzig-weißes Aussehen an, das später mehr in gelblich übergeht. Eine Erweichung der Möhre tritt nicht ein. Die Stäbchen sind verschieden lang, Fäden sind selten.

Auf Kartoffel-Stückchen bilden sich hell- bis graubräunliche schleimige Beläge, mikroskopisch zeigen sich meist mittellange schlanke Stäbchen mit mehr oder weniger starker Neigung zur Fadenbildung.

Bouillon wird kräftig getrübt, und es bildet sich ein dicker Bodensatz sowie ein zartes Oberflächenhäutchen. Die Fluoreszenz ist deutlich. Auffallende Formänderungen in der Bouillon wurden nicht beobachtet.

Milch wird koaguliert, das Kasein aber innerhalb von 12 Wochen nicht peptonisiert.

Lackmusmilch wird ohne Umschlag in Rot koaguliert.

Uschinsky-Lösung wird stark getrubt und bei ruhigem Stehen wird auch ein ganz feines Häutchen gebildet.

In Fermi-Lösung ist die Hautbildung deutlicher und der Trübungsgrad etwa dem in Uschinsky-Lösung entsprechend.

Auch in Cohn-Lösung ist die Entwicklung noch gut, wenn auch die Trübung nicht ganz die Stärke erreicht wie in Uschinsky- und Fermi-Lösung. Die Stäbchen neigen hierin stärker zur Fadenbildung.

Färbung nach Gram ist negativ.

Indol wird nicht gebildet.

Verhalten gegenüber verschiedenen Temperaturen.

Die Versuche wurden auf Bouillon-Agar durchgeführt.

Bei 0—2,8° C ist nach 8 Tagen schon sehr deutliche Entwicklung auf dem Substrat festzustellen.

Bei 2,2—4,5° C zeigt sich keine wesentliche Abweichung gegenüber der Entwicklung bei der niederen Temperaturstufe. Während dort aber die Fluoreszenz nur schwach war, trat sie hier schon etwas deutlicher auf.

Bei 5,5—7,5° C war bereits nach 6 Tagen das Wachstum und auch die Fluoreszenz gut.

Bei 8,4—9,3° C war nach 4 Tagen die Entwicklung deutlich und bereits Fluoreszenz vorhanden.

Bei 11,2—12,2° C hob sich der Belag nach 4 Tagen deutlicher vom Substrat ab als bei 8,4—9,3° C.

Bei 16,5—18,2° C ließ sich nach 24 Std. eine Verbreiterung der Impfstriche, also Wachstum, deutlich erkennen.

Bei 19—20,4° C zeigte sich etwa das gleiche Bild.

Bei 23,4—24,2° C ist schon nach 24 Std. ein gleichmäßiger Belag auf der Agarschrägfläche gebildet.

Bei 27,9—28,5° C desgleichen.

Bei 29,9—30,5° C tritt eine kaum merkliche Verzögerung der Entwicklung ein.

Bei 32,2—33,1° C läßt sich nach 24 Std. zwar noch ein hauchdünner Belag erkennen, die Fluoreszenz wird aber schon schwächer.

Bei 35,9—36,9° C tritt Fluoreszenz überhaupt nicht mehr auf, es kommt aber noch zu einer Entwicklung der Bakterien.

Bei 40° C läßt sich ebenfalls noch eine geringe Vermehrung der Bakterien feststellen.

Bei 42° C finden sich nach 24 Std. zwar noch Schwärmer im Kondenswasser, zu einer Weiterentwicklung kommt es aber nicht mehr.

Das Temperaturoptimum für die Entwicklung liegt demnach etwa zwischen 23 und 28° C, das Maximum zwischen 40 und 42° C und das Minimum noch unterhalb 0° C.

Mikroskopisch ließ sich eine Wirkung der höheren oder tieferen Temperaturen auf die Formgestaltung der Bakterien nicht erkennen.

Der thermale Tötungspunkt liegt zwischen 51 und 52° C.

Verhalten gegenüber verschiedenen C-Verbindungen.

Das hier verwendete Nährsubstrat hatte folgende Zusammensetzung: Asparagin 0,2%, $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$ 0,05%, KCl 0,1%, K_2HPO_4 0,1%, Agar 1%, Lackmuslösung 6% und jeweils 1% der zu untersuchenden C-Verbindungen. Von letzteren wurden Glukose, Fruktose, Saccharose, Laktose, Maltose, Raffinose, Arabinose, Xylose, Glycerin, Erythrit, Mannit, Dulcit, Sorbit, Cellulose sowie die Natriumsalze der Ameisen-, Essig-, Milch-, Malon-, Wein- und Zitronensäure gepruft.

Zu diesen Untersuchungen wurden außer 3 Salatstämmen zum Vergleich noch eine Reihe anderer Fluoreszenten herangezogen, so ein Stamm von Pseud. medicaginis var. phaseolicola Burkh., dem Erreger der Fettfleckenkrankheit der Bohnen, ein Stamm von Pseud. tabaci Wo. et Fo., dem Erreger des Wildfeuers beim Tabak, ferner je 2 verschiedene Stämme von Pseud. fluorescens liquefaciens (Nr. 17 und 18, siehe S. 237) und non liquefaciens (Nr. 21 und 22) sowie von Pseud. pyocyanea (Nr. 23 und 24), die sich bereits einige Jahrzehnte in der Sammlung befanden. Gas wurde von keinem der 11 Stämme aus den verschiedenen Kohlehydraten, Alkoholen und organischen Säuren gebildet. Säure anfänglich von den 3 Salatstämmen aus Glukose, denn die blauviolette Agarsäule wurde vorübergehend deutlich rot, bei acidimetrischen Messungen nach 6 Wochen zeigte sich aber die [H˙] der Kontrollen und der beimpften Glukose-Röhrchen gleich. Starke Säure wurde gebildet aus Arabinose und Xylose (ph zwischen 4,0 und 4,3). Das Bohnenbakterium bildete nur aus Xylose stark Säure, ebenso das Tabakbakterium: von Pseud. fluorescens liq. zersetzt Nr. 17 nur Xylose, Nr. 18 aber Arabinose und Xylose unter starker Säurebildung. Pseud. fluorescens non liq. Nr. 21 verhält sich wie Pseud. fluor. liq. Nr. 18, während der Stamm 22 aus diesen beiden Zuckern überhaupt keine Säure bildet. Die beiden Pyocyanea-Stämme endlich wirken gleichmäßig auf Arabinose und Xylose, sie unter ebenfalls starker Säurebildung zersetzend, verhalten sich also in dieser Hinsicht wie die Salatbakterien.

Verhalten gegenüber den verschiedenen N-Verbindungen.

Für diese Versuche hatte das Nährsubstrat die gleiche Zusammensetzung hinsichtlich der Mineralsalze wie das für die C-Quellen-Versuche benutzte; als C-Quelle wurde hier nur einheitlich 1% Natriumzitrat gegeben, ferner der Agar 2 proz. und von den N-Verbindungen jeweils solche Mengen, daß der N-Gehalt derselben demjenigen von 0,2% Asparagin entsprach. Es wurden untersucht: Pepton, Asparagin, Glykokoll, Kaliumnitrat, Natriumnitrat, Ammoniumchlorid, Ammoniumsulfat, Ammoniumnitrat, Harnstoff, Hexamethylentetramin, α-Alanin und Leuzin. Dabei zeigte es sich, daß bis auf Hexamethylentetramin alle dargereichten N-Verbindungen als N-Quelle verwertet werden konnten, wenn auch verschieden gut. Als beste N-Quellen unter den obigen Bedingungen erwiesen sich Asparagin und Pepton, dann folgte Glykokoll, geringer war die Entwicklung bei Ammon- und Nitratstickstoff, α-Alanin und Leuzin, deutlich schlechter bei Harnstoff. Der Fettfleckenkrankheitserreger der Bohnen, Pseud. medicaginis var. phaseolicola, verhielt sich ähnlich wie die Salatbakterien, wuchs aber auf den verschiedenen Substraten stets etwas schlechter als die letzteren. Pseud. tabaci (Stamm Mü a 4) unterschied sich vor

allem von den anderen Bakterienarten dadurch. daß sie unter diesen Bedingungen[1]) — das muß ausdrücklich betont werden — selbst das Hexamethylentetramin, wenn auch schwach zu verwerten imstande war! Pseud. fluorescens liq. Stamm 17 und 18 sagte die Zusammensetzung des Nährbodens scheinbar nicht recht zu. Selbst auf den Pepton- und Asparaginsubstraten war die Entwicklung recht schwach und auf denen mit Ammonsalz trat überhaupt kein Wachstum auf. Die Stämme 21 und 22 von Pseud. fluorescens non liq. zeigten das gleiche Verhalten. Die Salatbakterien bildeten außerdem in den Röhrchen mit Nitraten Gas: ebenso verhielt sich Pseud. pyocyanea.

Denitrifikation.

Da bei den Versuchen mit den verschiedenen C-Quellen keine Zersetzung unter Gasbildung beobachtet worden war, mußte das Gas in den N-Versuchen aus den Nitraten stammen. Die Salatbakterien mußten demnach ebenso wie Pseud. pyocyanea die Fähigkeit besitzen, aus Nitraten Stickstoff zu entbinden oder zumindest gasförmige N-Verbindungen zu bilden, d. h. also zu denitrifizieren. Um diese Eigenschaft bei den Salatbakterien nochmals sicher festzustellen und gleichzeitig zu prüfen, ob auch unter den anderen Fluoreszenten noch solche sind, denen vielleicht unter günstigeren Bedingungen als den eben genannten die gleiche Eigenschaft zukommt, wurden 2 Serien von Nährsubstraten beimpft, die aus Bouillonagar (den Agar hier jedoch nur 1 proz.), 1% Glukose und 0,5% Kalium- bzw. Natriumnitrat bestanden, und bei denen durch die entstehende Gasbildung die Agarsäulen zerrissen werden:

		Gasbildung aus: KNO_3	$NaNO_3$
1.	Salatbakterium 1	+	+
2.	„ 2	+	+
3.	„ 3	+	+
4.	Pseud. tabaci	0	0
5.	„ medicaginis v. phaseol.	0	0
6.	„ lachrymans a	0	0
7.	„ „ b	0	0
8.	„ „ c	0	0
9.	„ „ d	0	0
10.	„ „ e	0	0
11.	„ „ f	0	0
12.	„ syringae a } aus Syringa	0	0
13.	„ „ l } vulg. isoliert	0	0
14.	„ „ I } aus Chrysan-	0	0
15.	„ „ II } themum indic.	0	0
16.	„ „ III } isoliert	0	0
17.	„ fluorescens liq. Samml.	+	+
18.	„ „ „ B. J. L.	0	0
19.	„ „ „ R. G. A.	0	0
20.	„ „ „ L. A. W. B. L.	0	0
21.	„ „ non. liq. Samml.	0	0
22.	„ „ „ „ B. J. L.	+	+
23.	„ pyocyan. Samml.	+	+
24.	„ „ B. J. L.	+	+
25.	„ „ L. A. W. B. L.	+	+

Es zeigte sich also, daß unter den sämtlichen geprüften pflanzenpathogenen Fluoreszenten (1—16) nur den Salatbakterien die denitrifizierende

[1]) Vgl. Stapp, C., Bakterielle Tabakkrankheiten und ihre Erreger. (Angew. Botanik. Bd. 12. 1930. S. 241—274.)

Tab. 1. Agglutinationsversuch.

Serum-Verdünnung	Salat-Bakterium			Pseud. syringae					Pseud. lachrym.	
	1	2	3	1	a	I	II	III	b	d
1:50	+++-	++-+	++++	+++/++	++	++/+	+	+	++	++
1:100	--++	-++-	++++	++	++/+	0	(+)	0	+	+
1:200	+-+-	++++	++++	+	+	0	0	0	(+)	0
1:400	++--	++-+	++++	+	+	0	0	0	0	0
1·800	-+++ ++-	++++ +--	++++	(+)	(+)	0	0	0	0	0
1:1000	---	+++	++-+/+++	0	(+)	0	0	0	0	0
1:2000	+++/++	-+-/+-	+-+/++	0	0	0	0	0	0	0
1:3000	+- +	-+ -	++/+	0	0	0	0	0	0	0
1:5000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:8000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:10 000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kontr.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

[1]) Sammlung = Stamm aus der Sammlung der Biologischen Reichsanstalt. B. I. L. = dem Reichsgesundheitsamt. L. A. W. B. L. = Stamm aus der Preuß. Landesanstalt für

Fähigkeit zukam. Außerdem denitrifizierten die Pyocyanea-Stämme, aber auch unter den als Pseud. fluorescens liquefaciens und non liquefaciens bezeichneten Stämmen befand sich je einer, der Gas bildete.

Im allgemeinen verläuft die Zersetzung von KNO_3 etwas heftiger wie die von $NaNO_3$. Wie schnell die Nitratzerstörung durch die Salatbakterien vor sich geht, zeigte ein Versuch in einer mineral. Nährlösung mit 1% Glycerin als C-Quelle und einem Kaliumnitratgehalt von 0,2 resp. 0,4%. Nach 4—6 Tagen waren die 0,2%, nach 14 Tagen die 0,4% Nitrat der Lösung restlos verbraucht.

Serologische Untersuchungen.

Um die verwandtschaftlichen Verhältnisse des von mir isolierten Salatfäuleerregers zu den übrigen Fluoreszenten, vor allem denen, die auch denitrifizierten, festzustellen, wurden Kaninchen mit den Salatbakterienstämmen gespritzt und das Serum zu Agglutinations- und Präzipitationsversuchen verwandt.

Tab. 1 enthält die Ergebnisse der Agglutinationen. Alle Salatbakterien wurden deutlich agglutiniert bis zur Verdünnung 1 : 3000, nicht mehr bei 1 : 5000. Eine Mitagglutination bis zur Verdünnung 1 : 200 ist noch bei einer ganzen Anzahl von Stämmen festzustellen, teilweise reicht dieselbe bis 1 : 1000; das deutet darauf hin, daß bei vielen Fluoreszenten gewisse verwandtschaftliche Beziehungen bestehen. Die Pyocyanea-Stämme verhielten sich aber alle 3 völlig negativ.

Für die Präzipitationsversuche wurden neben den Salatbakterien nur solche Stämme ausgewählt, die im Agglutinationsversuch auch Agglutination gezeigt hatten. Daß das Salatbakterium jedoch mit keinem dieser Fluoreszenten übereinstimmt, ergibt sich aus dem negativen Ausfall der Präzipitation in Tab. 2; nur der Salatbakterienauszug zeigte bis zu 0,005 ccm Serum in der Verdünnung noch Ringbildung.

Kaninchen-Serum · Salat-Bakterium Stamm 1.

Pseud. tabaci		Pseud. med. var. phas.		Pseud. fluor. liq.				Ps. fluor non liq.		Pseud pyocyan.		
C 7	Mu a 4	4	VIII	Sammlung[1])	B. I. L.	R. G. A.	L. A W B. L.	Sammlung	B. I. L	Sammlung	B. I. L.	L. A. W B. L
++++ +++	+++	0	0	+++/++	+++/++	0	++/+	0	+	0	0	0
+++ ++	++/+	0	0	++/+	++/+	0	(+)	0	(+)	0	0	0
–	(+)	0	0	(+)	++/+	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	(+)	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

[1] Stamm aus dem Bakt. Institut der Landwirtschaftskammer Berlin. R. G. A. = Stamm aus Wasser-, Boden- und Lufthygiene, Berlin-Dahlem.

Tab. 2. Präzipitationsversuch.
Kaninchen-Serum : Salat-Bakterium Stamm 1.

Absolute Serummenge ccm	Salatbakterium	Pseud. syringae		Pseud. tabaci	Pseud. medic. var. phas.	Pseud. fluor. liq.	Pseud. lachrymans	
	2	III	a	C 7	4	B. J. L.	2	4
0,1	+	0	0	0	0	0	0	0
0,05	+	0	0	0	0	0	0	0
0,01	+	0	0	0	0	0	0	0
0,005	+	0	0	0	0	0	0	0
0,001	0	0	0	0	0	0	0	0

Folgerungen und Infektionsversuche.

Wie eingangs erwähnt, sind bei früheren Untersuchungen über die Ursache der Salatfäulen zwar stets Fluoreszenten als Erreger festgestellt worden, doch diese Fluoreszenten gehörten nicht einer einzigen Bakterienart an, sondern wurden auf Grund der Verschiedenheiten jeweils als besondere Spezies bezeichnet. Auch der von mir isolierte Fluoreszent zeigte deutliche Abweichungen in seinem Verhalten von den bisher genauer beschriebenen. Von Pseud. endiviae Kotte unterscheidet er sich vor allem durch sein Gelatineverflüssigungsvermögen und seine Fähigkeit, die Milch zu koagulieren, von Pseud. vitians Brown durch den Mangel an Peptonisierungsvermögen für das Kasein der Milch, von Pseud. marginalis Brown durch den niedrigeren thermalen Tötungspunkt, das Wachstum in Fermi- und Cohn-Lösung und seine denitrifizierende Eigenschaft. Auch die von M. Lacey isolierten 5 Fluoreszenten aus Salat müssen von dem von mir reingezüchteten Bakterium verschieden sein, da ihnen allen das Denitrifizierungsvermögen fehlt. Vielleicht ist der Erreger identisch mit einem an Cichorium intybus pathogen aufgetretenen

Bakterium, der Phytomonas[1]) intybi Swingle (11), die auch denitrifiziert, die Gelatine verflüssigt und einen thermalen Tötungspunkt von 51° C hat, im übrigen aber völlig unzureichend beschrieben ist und von der hinsichtlich ihrer Pathogenität von Swingle angegeben wird, daß Infektionen an Kopfsalat „doubtful, probably negative" waren.

Aus diesen Feststellungen ergibt sich unzweifelhaft, daß verschiedene Mikroorganismen arten, die zwar alle derselben Gattung angehören, an Salat spontane Krankheitserscheinungen, nämlich Naßfäule, hervorrufen bzw. hervorrufen können. Wir kennen zwar auch als Ursache der Schwarzbeinigkeit und Knollennaßfäule der Kartoffeln verschiedene Bakterien, die Abweichungen voneinander sind aber derart gering — z. T. nur auf serologischem Wege feststellbar —, daß diese Bakterien nicht als gesonderte Arten angesprochen werden können, sondern in eine Gruppe, die Bac. phytophthorus-Gruppe, zusammengefaßt werden müssen (9). Ähnlich verhält es sich mit den Wurzelkropferregern, die in die Gruppe „Pseudomonas tumefaciens" gestellt sind (7). Im übrigen gehören solche Fälle zu den Seltenheiten. Dagegen ist die Polyphagie verhältnismäßig häufig, denn es sind eine ganze Reihe von Bakterien bekannt, die nicht nur für eine bestimmte Wirtspflanze, sondern für mehrere Pflanzenarten und -gattungen pathogen sein können. Wenn nun mit der Verschiedenartigkeit der Salatbakterien gerechnet werden muß, ist auch die Möglichkeit gegeben, daß von den im Wasser und Boden häufig vorkommenden gewöhnlichen Fluoreszenten eine Anzahl sich bei Salat als pathogen erweisen wird. Es wurden deshalb außer den von mir früher isolierten phytopathogenen Fluoreszenten (Nr. 1—16, S. 237) noch eine Reihe von Fluoreszenten auf ihre Virulenz für Salat geprüft, die teils der eigenen Sammlung entnommen, teils von anderen Instituten bezogen worden waren. Es handelte sich um Reinkulturen, die meist unter der Bezeichnung Bac. fluorescens liquefaciens, Bac. fluorescens non liquefaciens und Bac. pyocyaneus[2]) gehalten wurden (Nr. 17—25, S. 237)[3]).

Daß die als Pseud. bzw. Bac. fluorescens liquefaciens und ebenso die als Bac. fluorescens non liquefaciens bezeichneten Stämme nicht einheitlich waren, zeigte bereits das Untersuchungsergebnis hinsichtlich der Zersetzung der Zuckerarten und auch der Denitrifikation. Verschiedenheiten unter solcher Bezeichnung gehaltener Fluoreszenten konnten auch John-Brooks, Nain und Rhodes (4) an einer Anzahl aus Nordamerika bezogener Kulturen auf serologischem und biochemischen Wege nachweisen. Aus diesem Grunde war es nötig, alle mir zur Verfügung stehenden Stämme zu den Pathogenitätsprüfungen heranzuziehen.

An Kopfsalatpflanzen hatten sämtliche Salat-Bakterienkulturen 4 Tage nach der Infektion mittels Nadelstich im Gewächshaus große seidenpapierartige Flecke hervorgerufen (vgl. Abb. 2), während die Adern eine bräun-

[1]) Der in Amerika gebräuchliche Gattungsname Phytomonas ist mit dem Gattungsnamen Pseudomonas des Migulaschen Systems übereinstimmend.

[2]) Da es sich bei diesen 3 Fluorescenten-Arten um polar begeißelte Organismen handelt, werden sie zweckmäßiger, entsprechend dem Migulaschen System, mit dem Gattungsnamen Pseudomonas anstatt Bacillus belegt.

[3]) Leider existierte die von Kotte beschriebene salatpathogene Pseud. endiviae nicht mehr.

liche Farbe angenommen hatten. Auch die mit einer Bakteriensuspension bestrichenen Blätter waren befallen, woraus hervorgeht, daß der Parasit durch die Spaltöffnungen in die gesunde, unverletzte Pflanze einzudringen vermag (vgl. Abb. 3).

Ferner erwies sich für Salat pathogen Pseudomonas syringae, und zwar zeigten diese Eigenschaft sowohl die älteren Stämme aus Syringa vulgaris als auch die neuerlich aus Chrysanthemum indicum isolierten (10). Gegenüber den anderen pflanzenpathogenen Fluoreszenten (Nr. 4—11, S. 237) und ebenso den verschie-



Abb. 2.



Abb. 3.

Abb. 2. Junge Salatpflanze in der Aufsicht. Blätter durch Nadelstiche infiziert.
Abb. 3. Blatt von Kopfsalat, durch Bestreichen der Unterseite mit Bakterienaufschwemmung infiziert.

denen Stämmen von Pseud. fluorescens liq., Pseud. fluorescens non liquefaciens, sowie von Pseud. pyocyanea verhielten sich die Salatpflanzen vollkommen indifferent. In der Folgezeit stellte sich nun heraus, daß die 1931 von mir isolierten Salatbakterien in ihrer Virulenz stark nachließen, eine Beobachtung, die zu der Vermutung Anlaß gab, es könnten unter den gewöhnlichen, die Gelatine verflüssigenden und nicht verflüssigenden Fluoreszenten doch solche gewesen sein, die vielleicht ursprünglich pathogene Eigenschaften für Salat besessen, diese aber im Laufe der Jahre auf dem künstlichen Substrat vollkommen eingebüßt hätten. Deshalb wurde eine Reihe von Fluoreszenten aus Berliner und Potsdamer Wasserleitungen sowie aus mit Erde verunreinigten Wasser-

behältern in Gärten, aus denen Gießwasser entnommen wurde, frisch isoliert und unmittelbar auf ihre salatpathogenen Eigenschaften hin geprüft. Aber auch diese Stämme waren sämtlich an Salat wirkungslos. Dennoch wäre denkbar, daß bei Einbeziehung von Wasserproben aus anderen Gegenden, sich Fluoreszenten isolieren ließen, denen pathogene Wirkungen in dieser Richtung zukämen.

Mehrere Fluoreszenten wurden auch noch an Weiß- und Rotkohl geprüft. Wie die Salatbakterien erwiesen sie sich für diese Kohlarten als apathogen. An Bohnen (Phaseolus vulgaris) war nur Pseud. medicaginis var. phaseolicola virulent.

Die Salatbakterien allein wurden noch an Tabak (Nicotiana tabacum) und an Kresse (Tropaeolum) geprüft, jedoch ebenfalls mit negativem Erfolg, ferner zusammen mit einigen aus Chrysanthemum isolierten Stämmen von Pseud. syringae an Cichorium intybus und zwar an gut entwickelten Freilandpflanzen im Sommer 1934. Dabei ergab sich bei Stamm 3 der Salatbakterien noch eine deutlich pathogene Wirkung gegenüber diesen Pflanzen. Es traten bis zu 1 cm große, schnell braun werdende Flecke an den Infektionsstellen auf, während die Pseudomonas syringae keinerlei Symptome an Cichorium intybus hervorzurufen vermochte. Dieses Verhalten der Salatbakterien und die starke Virulenzschwächung gegenüber Kopfsalat im Laufe von 3 Jahren spricht stark dafür, daß eine Identität mit Pseud. intybi Swingle vorliegt. Eine sichere Entscheidung darüber ist jedoch infolge der ungenügenden Beschreibung dieses Bakteriums durch Swingle leider nicht möglich.

Bekämpfung.

Im allgemeinen treten durch Bakterien hervorgerufene Salatfäulen nur dann in stärkerem Maße in Erscheinung, wenn die Luftfeuchtigkeit in den Treibhäusern bzw. den glasbedeckten Kästen zu hoch ist. Sofern also nach Entfernen aller kranken Blätter oder der ganzen Pflanzen und geregelter Durchlüftung die Krankheit nicht ausgemerzt werden kann, ist — trotzdem von mir der Beweis nicht erbracht werden konnte, daß die gewöhnlich im Wasser vorkommenden Fluoreszenten für Salat pathogen sind — zuerst das Gießwasser zweckmäßig durch einmaliges kurzes Aufkochen und Wiedererkaltenlassen zu entseuchen. Da dieses, vor allem auf krausblättrigem Salat, leicht in Ausbuchtungen der Blattlamina sich sammelt, kann der Erreger von solchen Stellen aus ohne weiteres durch die Stomata in das Blattinnere eindringen. Genügen diese Maßnahmen nicht, dann ist die Erde durch frische zu ersetzen oder eine wirksame Bodendesinfektion durchzuführen.

Verwendung von bakteriziden Spritzmitteln kommt, worauf schon Kotte bei der Endivienfäule hingewiesen hat, nicht in Frage.

Zusammenfassung.

Es wird eine Fäule an Kopfsalat (Lactuca sativa) und Endivien (Cichorium endivia) beschrieben, die durch ein fluoreszierendes Bakterium verursacht wurde, dem gleichzeitig stark denitrifizierende Eigenschaften zukommen und das, da auch Virulenz gegenüber Cicho-

rium intybus feststellbar war, sehr wahrscheinlich mit Pseudomonas intybi Swingle identisch ist.

Außer diesem Fluoreszenten erwies sich noch Pseudomonas syringae van Hall, der Erreger der Fliederseuche, für Salat pathogen. Als völlig avirulent an Salat zeigten sich eine Reihe anderer daraufhin geprüfter fluoreszierender und pflanzenpathogener Bakterien, sowie in jedem Gießwasser für gewöhnlich vorkommende, die Gelatine verflüssigende und nicht verflüssigende Fluoreszenten.

Zweckmäßige Bekämpfungsmaßnahmen werden angegeben.

Literatur.

1. Brown, N., A bacterial disease of lettuce. (Journ. Agric. Research. Vol. 4. 1915. p. 475—478.) — 2. Brown, N., A bacterial stem and leaf disease of lettuce. (Phytopathology. Vol. 7. 1917. p. 63.) — 3. Brown, N., Some bacterial diseases of lettuce. (Journ. Agric. Research. Vol. 13. 1918. p. 367—388.) — 4. John-Brooks, R. St., Nain, K., and Rhodes, M., The investigation of phytopathogenic bacteria by serological and biochemical methods. (Journ. of Pathology a. Bacteriology. Vol. 28. 1925. p. 203—209.) — 5. Kotte, W.. Eine bakterielle Blattfäule der Winter-Endivie (Cichorium endivia L.). (Phytopathol. Ztschr. Bd. 1. 1930. S. 605—613.) — 6. Lacey, M. S.. Studies in bacteriosis. XIX. Researches on the group of greenfluorescent bacteria, Part 2; on some plant diseases caused by bacteria of the greenfluorescent group, and a comparison and discussion of various cultural characteristics of certain members of this group. (Ann. appl. Biology. Vol. 19. 1932. p. 190—203.) — 7. Stapp, C., Der bakterielle Pflanzenkrebs und seine Beziehungen zum tierischen und menschlichen Krebs. (Ber. Dtsch. Bot. Gesellsch. Bd. 45. 1927. S. 480—504.) — 8. Stapp, C., Schizomycetes. 48. Bakteriosen der Compositen; in Sorauer, Handbuch der Pflanzenkrankheiten. 5. Aufl. Berlin 1928. S. 286—293. — 9. Stapp, C., Die Schwarzbeinigkeit und Knollennaßfäule der Kartoffel. (Arbeiten a. d. Biolog. Reichsanst. f. L. u. F. Bd. 16. 1928. S. 644—703.) — 10. Stapp, C., Eine Bakteriose an Chrysanthemen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 90. 1934. S. 320—329.) — 11. Swingle, D. B., Center rot of „French Endive" or wilt of cichory (Cichorium intybus L.). (Phytopathology. Vol. 15. 1925. p. 730.)

Soil and Fusarium Diseases.

By **Otto A. Reinking.**

Introduction.

The environment as a factor in the inception and development of plant diseases has received much attention during recent years. The factors most studied have been temperature and moisture. Probably the most important fusarium diseases of plants are the wilts and root-rots in which the plant is primarily infected through its root system by fungi present in the soil. Since the fungus must pass a part of its life history in the soil, the latter may have a direct bearing on the development and nature of the fungus and thereby a direct bearing on disease production. The problem relative to the nature of the soil and the effect of different soil types on the development and growth of disease producing fungi has not received the attention probably that it deserves. It has been frequently noted that under similar environmental conditions the severity of wilt or seedling-blight and root-rot diseases caused by Fusaria vary distinctly according to the type of soil upon which the plant is growing.

The relation of soil temperature to plant disease production has been clearly demonstrated with the investigations of Jones and others (18, 19, 20). It has been shown that fusarium wilt diseases are readily influenced in their development by soil temperature. Since the disease curve quite frequently closely parallels that of the vegetative development of the parasites, the indications are that the influence of temperature is mainly a direct effect on the fungus. Jones, Johnson and Dickson (20), however, conclude that "the associated abnormal host conditions which we term 'disease' are the resultants of the interaction of a plastic host and a plastic parasite under the play of environment". The effect of soil moisture on disease production also has received quite considerable attention (5. 11, 24).

Correlation of Soil and Fusarium Diseases.

Apparently the factors of temperature and moisture alone cannot account for the differences noted in the severity of various diseases, on different soil types caused by Fusaria or a combination of the latter fungi with other fungi. Investigations conducted during the past years on the important fusarium-wilts and root-rots of plants indicate that these diseases are particularly closely correlated with the soil conditions.

Reinking and Manns (35, 36) and Reinking (31, 32, 33, 37) have shown that the soil type has a marked influence on the growth and development of Fusaria in general and in particular with a distinctly parasitic form. They found that the banana wilt organism is found in greatest abundance in light textured soils as compared to heavier textured soils.

Walker and Snyder (51) found a distinct difference in severity of pea wilt when plants were grown side by side on different soils. They report that the wilt fungus does not readily establish itself in Superior red clay while in Carrington and Miami silt loam it established itself very rapidly.

Cotton-wilt is reported to vary according to the soil type. Wollenweber (53), Gilbert (9) and Young (54) studying in the United States found that the disease was more severe on the lighter sandy soil. The same condition was reported by Zaprometoff (55) in Russia. The latter also states that on soils with a high content of common salt the incidence of wilt is very slight. Fikry (8) and Borg (4) respectively in Egypt and Malta, however, report the type of cotton wilt in their locality to be most destructive on clayey and impermeable soils.

Bolly and Manns (3) state that with flax wilt the sandy loam soils so well adapted to flax raising appear to be very favourable to the fungi causing "sickness".

Poole (28) and Harter (11) report that the season, prevalence and severity of the stem-rot and wilt of sweet potatoes appears to be particularly closely correlated with the soil conditions. Poole reports the disease to be more severe in dry seasons and in sandy soils.

Moore (25) found that the heaviest infection in maize root and ear rot was on the light loam soils.

The foot-rot of cereals caused by various Fusaria and other fungi is reported to vary in severity according to the soil type upon which the host plant is grown. Guyot (10) in France states that the disease is less severe

on clay soils and that wheat is most susceptible on hot. fertile soils. Moritz (26, 27) in Germany reports that the liability to foot-rot caused by Ophiobolus graminis depends in a great measure on soil factors including biological factors. He observed a distinct connection between the occurrence of the disease and the geological age of the soil. Foot-rot is found only on the oldest podsol soils of the eastern and central districts, while the geologically recent western marshes and the Island of Fehmarn with czernosen or black soils are exempt from the disease. He states further that the physical structure of the soil is probably in part responsible for the presence or absence of foot-rot.

Hiltner (13) found snow-mould, due to F. nivale, worse on heavy, poorly worked, poorly drained, clay soil and on soils rich in humus. Korff (21) also reports that snow mold was observed to be more prevalent and severe on heavy, acid soils than on light alkaline soils. Eglits (7) on the other hand, states that rye suffered most on light and least on heavy soil.

According to the above investigations the majority of the diseases cited appear to be favored by light textured soils, although exceptions have been reported.

The reasons for the better development of a pathogenic Fusarium in one soil type as compared to that of another has not been clearly established. Apparently many factors enter into the problem. Various soil factors have been studied in an attempt to assign a definite cause for the differences in severity of disease. The influence of the hydrogen-ion concentration in the soil has been studied in an attempt to solve various disease problems.

Edgerton (6) and Scott (41) have pointed out the possible influence of the soil reaction and the application of lime on the wilt of tomato. Sherwood (42) has reported that the highest percent of wilt uniformly occurred in the most acid soils and decreased in almost every case with a reduction in the pH concentration. Other influential factors, however, such as nutrition, aeration and organic matter content were recognized as playing an important part in the development of the disease.

In Texas (56) it is reported that F. bulbigenum f. 1 (F. lycopersici) is present on tomatoes in different soil types, upon slightly acid or neutral to highly calcareous soils.

McRae and Shaw (24) state that the incidence of infection did not correspond with the amount of soil moisture and the difference of the pH values of the soil in the various plots in investigations conducted with the wilt of pigeon pea in India.

Thorold (44) reports that limed soil, giving an alkaline reaction, increased the percentage of wilt of sunn hemp (Crotolaria).

Schaffnit (40) states that Calonectria graminicola is dependent for its development on an alkaline soil reaction and that it is unable to grow in acid soils. Bennett (1), on the other hand, found that neither the existence nor the pathogenicity of the English strain of the fungus is appreciably affected by the acid or alkaline condition of soils within ordinary field ranges.

Although an apparent correlation is indicated in certain instances between the soil reaction and Fusarium diseases, attempts to change the reaction of the soil and thereby decrease disease, or to select soils that have a natural reaction unfavorable to disease production have given variable and mostly negative practical results.

Waksman (45, 46, 47) and Waksman and Starkey (49) point out that the soil is very complex where chemical, physical and biological factors are active. Any influence which tends to disturb this adjustment in the soil conditions alters these processes. A change in soil reaction, addition of inorganic fertilizers, introduction of organic substances, change of temperature, moisture, pressure and air movements may affect the numbers and activities of micro-organisms in the soil. The composition of the soil microbial population is, therefore, a resultant of numerous factors.

Russell (38) indicated that the type of soil and its treatment exercised a great influence over the number of fungi present.

Jensen (17) studied the mycoflora of one hundred different Danish soils of widely varying character with particular reference to cultivated soils, as well as the distribution of the fungi in relation to soil conditions and their importance in certain biochemical soil processes. Fusarium species were among the most common genera isolated. He reports that the largest amount of mycelium was found in acid soils rich in organic matter. No clear relationship was determined between the number of fungi and the reaction or type of this soil, except that very heavy clay soils were poor in fungi. The addition of lime to acid soils did not markedly depress the number of fungi, but greatly stimulated the development of bacteria and actinomycetes. Fertilization especially with farmyard manure, appeared to increase the number of all three groups of organisms. In general the investigation indicated that the actual abundance of fungi in the soil depends on many factors, among which food supply plays an important part. Most fungi were capable of decomposing cellulose, the addition of which stimulated an abundant development of fungi in both acid and alkaline soils.

Rathbun-Gravatt (30) in a study on damping-off of coniferous stems is of the opinion that the degree of virulence of the organisms or the ability to maintain themselves saprophytically in the soil is largely dependent upon the amount and quality of the available food supply.

Waksman and others (17, 43, 48, 50) have shown that the addition of cellulose or straw to soils kept under aerobic conditions, especially in the presence of available nitrogen, causes a very large increase in the number and development of filamentous fungi among which are Fusaria.

Reinking and Manns (35) have shown that F. oxysporum f. 3 is found in greatest numbers in a peat banana soil in Honduras.

Apparently the biological factor plays an important role in the growth and development of pathogenic organisms in the soil. The study of the foot-rot problem of cereals due to Fusaria and other fungi have indicated that the biological factor may be important.

Moritz (26) has pointed out that the biological condition of the soil is evidently of paramount importance in the etiology of foot-rot, the association of which with chemical and physical factors requires further investigation.

Sanford and Broadfoot (39) state that the pathogenicity of Ophiobolus graminis is more or less suppressed in the presence of certain soil organisms including fungi and bacteria. It is possible that the existence and pathogenicity of other fungi might be modified in the soil by the antagonistic action of the natural micro-flora. The reduction in the virulence of the fungus was believed to be chiefly due to the toxicity of the living microorganisms tested or of their filtrates.

Bisby and others (2) in a study of soil fungi of Manitoba soils state that the results of experiments show that Trichoderma lignorum is capable of completely overwhelming and destroying the colonies of F. culmorum and that this fungus possibly plays an important role in decreasing the number of fungi in the soil.

Henry (12) in a preliminary report on testing the influence of normal soil mycoflora on the development and pathogenicity of the fungi responsible for foot and root-rots of wheat in Canada states that the results appear to indicate that the natural mycoflora of the soil investigated has a pronounced controlling effect on the development of Gibberella saubinetii and Helminthosporium sativum in the soil. The suppression of the pathogen in the soil appears to be correlated with a reduction in the severity of their attack on wheat seedlings. It also tends to explain the agricultural value of the summer bare fallow system, under which the soil saprophytes no doubt have a considerable advantage over the pathogens in the competition for food supplies. Where stubble is present on which the parasites are already established, the soil saprophytes probably are unable to overcome them as readily.

Lundegardh (23) in tests with various fusaria states that the indications are that high concentration of CO_2 (3 to 7%) not only exerted no retarding influence on mycelial growth, but actually stimulated it in the case of Gibberella saubinetii and F. culmorum. The growth of seedlings under the same condition is retarded. Thus it is evident that the fungi in question can thrive in conditions which adversely affect the development of seedlings. This fact may give a useful clue to the cause of the prevalence of fungous attacks in impermeable soils. It has frequently been observed that plentiful fertilization with organic manure especially in a fresh condition or too late in the season favours the development and spread of infectious diseases. On the results of these researches the author attributes this to the fact that, even in moderate quantities, such manure increases the CO_2 content of the soil with the consequences described above.

Little work has been done to show the direct chemical effect of the soil upon a plant whereby its resistance or susceptibility to a Fusarium is effected. An accumulation of iron and aluminium in the plant may be an example.

In studies conducted on the root and stalk rot of maize caused by F. moniliforme, Gibberella saubinetii and other fungi it was found that the influence of certain soils increased the liability to root-rot of some strains of maize more than others. Hoffer and associates (14, 15) are of the opinion that the organisms appear to be of secondary importance in the disintegration of the nodal tissues which begins prior to their invasion. Such plants were found to have an accumulation of iron and aluminum. Inoculation experiments with Gibberella saubinetii on plants growing in soil with a higher percent of aluminum oxide resulted in a greater tendency for these plants to blight. The same strain was relatively little affected by the fungus when grown in pots receiving acid phosphate and calcium carbonate in addition to the aluminum sulphate. They conclude that the occurrence of numerous aluminium injuries in maize plants in certain fields is an indication that the soil is deficient in available phosphates. The application of lime and phosphates to soils in which root-rots have developed in destructive proportions have been decidedly beneficial in the control of these diseases. Ireland (16) how-

ever, found that limited applications of iron and aluminum salts not only cause no increase of susceptibility to fungus infection, but are actually beneficial on clay soils, possible in the capacity of flocculents.

Banana Wilt in Relation to Soil Type, pH concentration and Average Number of Organisms per gram of Soil.

In banana culture it has frequently been observed that on certain soil types the banana wilt disease although present is not severe and does not spread fast. Upon such „resistant" soils. individual plants within an old "mat" or cluster of bananas, may remain healthy and produce fruit even though one plant within the same is diseased.Experiments have even shown that old diseased spots, under these very favorable soil conditions may be replanted, after lying fallow for a few years, and produce healthy plants and fruit. In certain instances such replanted areas may again show disease, but some individuals within the new cluster of plants still produce fruit. This interesting situation led to experimentation in an attempt to explain the situation. Two apparent theories present themselves. One being that the plant is made resistant to the attacks of the fungus due to some chemical soil condition that has imparted resistant qualities to the plant. Another being that the growth and multiplication of the organism is inhibited due to some condition inherent in the particular soil.

In certain instances in alluvial deposits from the same river a spot, sometimes only 25 to 50 feet in diameter, may have 100 percent diseased bananas, while the surrounding bananas are healthy or with only an occasional diseased plant. Spread from this diseased spot into the healthy bananas around is very slow and cases are on record where the banana plants surrounding and adjacent to such a diseased area have remained relatively free from disease and have produced fruit on an economic basis for 10 to 15 years and apparently will continue to produce much longer. Such clear cut cases of 100% disease adjacent to only slight disease upon different soil types, deposited from the same river, with meteorological conditions identical would lead one to believe that something inherent in the soil is responsible for this difference. In former experiments attempts were made to correct this condition by the addition of various chemicals, including lesser elements, but in every instance negative results were obtained. Correlations with pH and disease were also made but these did not hold true in all instances. The present studies were made to prove whether or not the soil had some influence on the development of the parasite. A count of the number of the parasites in the different soil types with extreme differences in disease was made (33, 35, 36). The following table summarizes the results of the studies made on adjoining planted areas with 100% disease and with slight infection. These areas were under identical meteorological conditions and in most cases with almost like pH concentration. They are located in the banana regions of Honduras, Costa Rica and Panama. In each instance the count of the organism in the soil area was made about a diseased "mat".

The two Guaymas soil type areas in Honduras are in a region where disease spread had been severe with general abandonment within four years from the time of planting. The soil area is composed of a mixture of outwash material from the nearby hills and alluvial material deposited by short,

Banana Wilt in Relation to Soil Type, pH Concentration and Number of Organisms per gram of Surface Soil.

Location	Honduras			
Soil Type	Guaymas C. 41%	Guaymas C. 34%[1])	Quebrada Seca C. 37%[1])	Quebrada Seca FS
pH concentration[2])	5.2	5.3	7.2	6.9
Av. No. F. oxysporum f. 3 per gr. soil	a—b 80—48	640	280	750
State of Disease	Bearing after 4 years	100% in 3 years	Bearing after 12 years	100% in 4 years

[1]) With high percentage of sand.

[2]) pH determination in Honduras made by the Quinhydrone method. Those for Costa Rica and Panama made in the field with Soiltex.

(Continuation.)

Location	Costa Rica			
Soil Type	Monte Verde C. 35—40%	Monte Verde C + S	Monte Cristo CL	Monte Cristo FS
pH concentration	7.0	7.0	7.0 +	7.0 +
Av. No. F. oxysporum f. 3 per gr. soil	50	1590	200	1600
State of Disease	Scattered in 9 years	100% in 2 years	Scattered in 10 years	100% in 2 years

(Continuation.)

Location	Panama			
Soil Type	Changuinola C. 45%	Changuinola VFSL	Sixaola C+ 50—55%	Sixaola VFSL
pH concentration	5.7—6.1	5.0—5.6	5.0—5.6	5.0—5.6
Av. No. F. oxysporum f. 3 per gr. soil	50	420	50 to 120	1070
State of Disease	Slight in 1 year	100% in 2 years	Scattered in 3 years	100% in 2 years

small creeks (35). Within this area, with almost 100 percent disease, were spots or islands of plants with little disease, that were still producing fruit in spite of the severe surrounding infection. The Guaymas 41% clay area is a representative spot of the latter type within which all clusters of bananas were still producing fruit, but with disease in some plants. The Guaymas 34% clay area has 100% disease and adjoins the heavier clay area with little or no disease. The pH concentration of both areas is approximately the same, being acid, with a pH of 5.2 and 5.3 respectively. Isolations of the parasite (F u s a r i u m o x y s p o r u m f. 3) in the soil, in each case about a diseased plant, within the areas showed a wide difference in the count (35). The area sampled in the acid heavier clay spot showed a low count of the organism in spite of the fact that it was surrounded with a 100 percent infected area on lighter soils. The organism was difficult to isolate

from the 25 different samples taken about the diseased plant and was present in the two type areas, a and b, at the average rate of 80 and 48 respectively per gram of soil. No difficulty was encountered in isolating the organism in the acid lighter clay area, where an average count of 640 per gram of soil was found to be present. While this latter area is classified as a light clay it had some 46% of sand (35) and therefore in reality is almost a sandy clay soil.

The Quebreda Seca areas in Honduras are composed of a mixture of outwash material from the adjacent mountains and of alluvial deposits from the Ulua River (35). The two areas adjoin. The fine sand area being an extreme type and a relatively poor infertile banana soil situated on the banks of a small creek. The adjoining clay area is further away from the river. The latter soil is a sandy clay with some 50% of sand (35). Both areas had approximately the same pH concentration. The sandy area had 100% disease within 4 years time and when replanted succumbed entirely to disease within 1 year, while the clay area adjoining had been producing fruit for 12 years and had little disease in spite of the heavily infected adjoining bananas. A count of 280 per gram of soil was obtained for the organism about a disease "mat" in the clay area while a count of 750 per gram of soil was obtained in the soil about a diseased "mat" in the fine sand area, showing that the organism thrives well in a sandy, alkaline soil. The two soil types examined were both about diseased plants and only some 30 feet apart. The diseased plant in the clay area was the first plant affected on the clay soil adjoining the sandy area and the soil at this point contained 50% sand (35). The adjoining plants ten feet away on a heavier clay, were all healthy and had been producing fruit for 12 years. A correlation exists here between the count of the organisms in the soil and the texture of the soil and rate of spread of disease.

The Monte Verde areas in Costa Rica are two distinctly different adjoining soil types made up of alluvial deposits from the Pacuare river (33). Both areas had an alkaline reaction with a pH concentration of 7.0. The sandy area had 100% disease within two years from the time of planting and had a count of 1590 organisms per gram of surface soil, while the adjoining clay area had only scattered disease after 9 years of growth. In the latter area the organism about a diseased plant could be isolated only with difficulty and was present in the soil at an average rate of 50 per gram of soil.

The Monte Cristo areas in Costa Rica are two distinctly different adjoining soil types made up of alluvial deposits from the Reventazon River. Both areas had an alkaline reaction with a pH concentration of over 7.0. The fine sand area had 100% disease within 2 years, while the adjoining clay loam area had been producing fruit for 10 years with only scattered disease present. A distinct line of demarcation from 100% disease to no disease or only scattered disease was present where the soil type changed. A count of the organism showed the same to be abundant in the fine sand soil with some 1600 per gram while in the clay loam it was present only at the rate of 200 per gram of surface soil.

In Panama a similar situation to that present in the other two countries was found. The areas examined in Panama were all on acid soils. The Changuinola areas were alluvial deposits from the Changuinola river. The very fine sandy loam area with a pH of 5.0 to 5.6 succumbed to disease in two years time and had a count of some 420 organisms per gram of soil while the 45% clay area with a pH of 5.7 to 6.1 had only slight disease

within one year and a count of only 50 organisms per gram of soil about a diseased mat. The Sixaola areas showed a similar situation. These areas were made up of alluvial deposits from the Sixaola river. The very fine sandy loam area had 100% disease in two years time while the heavy clay area had only scattered disease in a three year old planting. In the sandy soil the organism was present at the rate of 1020 per gram of soil, while in the clay area only counts of 50 to 120 per gram of soil were obtained.

Discussion.

The investigations conducted by the writer with banana wilt have shown that there is a distinct difference between the severity of disease, the prevalence of the organism in the soil and the soil type regardless of the pH concentration of the soil. The cases examined and cited in Honduras and Costa Rica were for adjoining different extreme soil types. deposited by the same river system, that showed a distinct difference in disease. The Panama areas were not side by side. In the adjoining areas examined the disease did not gradually radiate out from the 100% diseased area into the less diseased area, but there was a distinct line of demarcation between the two areas in respect to disease that corresponded with the change in the soil type. A line could be drawn between severe disease and no or slight disease following the change in soil even in certain instances after the two areas had been planted and showed disease for a period of over ten years. In all extreme differences in infection on adjoining areas, it was found that the disease was most severe on the sandy soil and less severe on the clay soil regardless of the pH concentration. The results of the banana wilt investigations in regard to disease and soil type therefore, are similar to those noted in the literature review for some of the fusarium-wilts of other plants.

The banana investigations also showed that in each case examined the number per gram of soil of the parasite causing the disease was always greatest in abundance in the badly diseased areas as compared to the slightly diseased areas even though the sampled areas were separated only by some 20 to 30 feet in distance. It was found that the organism could easily establish itself in the sandy soil types where large numbers were always isolated. It apparently had difficulty in establishing itself in the clay soil types where its growth is limited to a low number per gram of soil. The investigations conducted on banana wilt therefore, appear to show that the number of organisms present in the soil is the determining factor in the amount of disease and in the rate of disease spread. Apparently in heavily infected soil root infections are so numerous that the plant is unable to ward off attack, as has been shown to be possible by Wardlaw (52), and severe disease is produced. When the organism is not present in the soil in large numbers the infections are less and undoubtedly the plant is capable of warding off attack to a certain degree resulting in less severe disease. The effect of the different soil types upon the possible production or non-production of resistance within the plant to attack by the parasite apparently is not of such great importance. Other investigators have come to the conclusion that the quantity of inoculum in the soil determines the prevalence of disease.

Walker and Snyder (51) have found that the pea wilt organism establishes itself very rapidly in Carrington and Miami silt loam areas where

disease is severe and that it develops only to a slight degree in Superior red clay where disease is slight even when plots of the different soil types are adjacent to each other. They also state that the rate of wilting depends upon the number of points of the root system attacked at the same time.

Porter and Melhus (29) report that with watermelon wilt the degree of soil infection or the quantity of inoculum determines the rate of wilting of seedlings.

Young (54) states that in cotton wilt there is a close relationship between the conditions promoting the rapid saprophytic development of the fungus in the soil and the spread of the disease. It is suggested that under normal conditions, warm well-aerated, sandy soils with sufficient organic matter for the development of the pathogen may permit the rapid dissemination of the latter through the soil and thus facilitate attacks on the roots. He also found that the admixture with the soil of comparatively large amounts of the cotton wilt fungus in pure culture results in a greatly increased incidence of infection as compared with the addition of inoculum only to the upper two or three inches of soil. The latter condition also was found to be true by Kulkarni and Mundkur in India (22).

Reinking (34) found banana wilt in Dacca, India, to be severe especially in garden plantings that had been cultivated for years about the farm houses.

The explanation for the difference in the ability of an organism to establish itself in different soil types has not been determined. A promising line of investigation is, herewith, left open for further investigation. Since the soil is complex, where chemical, physical, and biological factors are active, it is highly probably that the reason for the difference in the severity of disease and the ability of a parasitic fungus to thrive is not only due to one factor, but possibly to a combination of factors.

The fact that the banana disease shows a marked difference in severity on different soil types is important in the formulation of control measures. This is particularly true when it is necessary to plant a susceptible variety. It has been possible to classify soils as to disease severity and to plant accordingly. The evaluation for length of life of plantings according to disease has been found important from the standpoint of maintenance, of operation and for the estimation of depreciation and operating costs in a commercial enterprise. In the purchase of new lands for planting, only those with resistant qualities should be selected.

The selection and planting of lands according to their resistant qualities from a disease standpoint apparently has not received the attention it deserves. In the absence of resistant varieties it is highly probable that severity of disease infection can be greatly reduced in the case of most of the fusarium-wilt diseases of plants by the selection and planting of proper soil types.

The use of sanitary measures, as destruction of diseased plants, in an attempt to decrease the rapidity of spread should be based upon plantings made according to the different soil types. On soil types where disease spread is rapid and the organism is abundant in the soil, it is evident that destruction of diseased plants by chemical means or burning would be a waste of time and money. However, on soil types where disease spread is slow and the organism has difficulty in establishing itself, this measure of control would be more practical.

Evidently the ability of the organism to exist for a period of years as a saprophyte in the soil varies according to the soil type. In soils in which it establishes itself with ease and in great numbers it undoubtedly is capable of existing for a longer period in the absence of its host than it is able to do in a soil type in which it does not thrive so well. The organism has been isolated in Costa Rica (33) from sandy soil types, within which it thrives well, after a period of ten years in the absence of its host. It has never been isolated from heavier soil types, in which it does not grow well, after the same period of time. Apparently the fungus is dependent upon its host plant for its continued existence in the soil and once the host plant has been removed the fungus probably gradually dies out in the soil, but at different rates in various soil types. Based upon these deductions it would appear that the length of time for a crop rotation is also dependent upon the soil type.

Summary.

A study of various diseases caused by Fusaria has shown that they apparently are closely correlated with the soil conditions.

Investigations conducted with banana wilt have shown that there is a distinct correlation between the severity of disease, the prevalence of the organism in the soil and the soil type.

It was found that disease was most severe on the sandy soil types and less severe on the clay soil types.

A count of the parasite in the soil about diseased plants showed that it was always greatest in abundance in the badly diseased areas as compared to the slightly diseased areas.

Fusarium oxysporum f. 3 establishes itself easily in sandy soil types with large numbers per gram of soil present, while it has difficulty in establishing itself in the clay soil types where its growth is limited to a low number per gram of soil.

The investigations conducted on banana wilt appear to show that the number of organisms present in the soil is the determining factor in the amount of disease and in the rate of disease spread.

The explanation for the difference in the ability of an organism to establish itself in different soil types has not been determined and thereby offers a promising line of investigation.

The fact that the banana disease shows a marked difference in severity on different soil types is important in the formulation of control measures.

It has been possible to classify soils as to disease severity and to plant accordingly. A control based on these principles is important in the absence of a disease resistant variety that could be planted on infected soil.

The use of sanitary measures, as destruction of diseased plants, in an attempt to decrease the rapidity of spread should be based upon plantings made according to the different soil types.

Evidently the ability of the organism causing banana wilt to exist for a period of years as a saprophyte in the soil varies according to the soil type.

Literature.

1. Bennett, F. T., Fusarium species on British cereals. Fusarium nivale (Fr.) Ces. (= ? Calonectria graminicola [Berk. et Br.] Wr.) (Ann. of Appl. Biol. Vol. 20. 1933. p. 272—290.) — 2. Bisby, G. R., James,

N., and Timonin, M., Fungi isolated from Manitoba soil by the plate method. (Canadian Journ. of Res. Vol. 8. 1933. p. 253—275.) — 3. Bolley, H. L., and Manns, T. F., Fungi of Flaxseed and Flaxsick soil. (North Dakota Agric. Exper. Stat. Bull. 259. [Technical.] 1932. 57 p.) — 4. Borg, P., Appendix F. Report of the Plant Pathologist. Repts. on the working of (Malta) Govt. Depts. during the financial year 1928—29. 1930. p. T 12—T 15. — 5. Clayton, E. E., The relation of soil moisture to the Fusarium wilt of the tomato. (Amer. Journ. of Botany. Vol. 10. 1923. p. 133—146.) — 6. Edgerton, C. W., A study of wilt resistance in the seed-bed. (Phytopath. Vol. 8. 1918. p. 5—14.) — 7. Eglits, H., and Eglits, M., Overwintering conditions of rye and the causes of crop failure in 1930—31. (Acta Inst. Defens. Plantarum Latviensis, Riga. Bd. 2. 1932. S. 33—39.) — 8. Fikry, A., Investigations on the wilt disease of Egyptian cotton caused by various species of Fusarium. (Min. of Agric. Egypt. Tech. a. Sci. Service. [Plant Protect. Sect.] Bull. 119. 1932. 106 p.) — 9. Gilbert, W. W., Cotton wilt and root knot. (U. S. Dept. of Agr. Farmers Bull. 625. 1915.) — 10. Guyot, L., Le piétin des Céréales. (Prog. Agric. et Vitic. Vol. 91. 1929. p. 435—438.) — 11. Harter, L. L., and Whitney, W. A., Relation of soil temperature and soil moisture to the infection of Sweet Potatoes by stem-rot organisms. (Journ. Agr. Res. Vol. 34. 1927. p. 435—441.) — 12. Henry. A. W., The natural mycoflora of the soil in relation to the foot-rot problem of Wheat. (Canadian Journ. of Res. Vol. 4. 1931. p. 69—77.) — 13. Hiltner, L., Stimmen aus der Praxis uber die diesjährigen Auswinterungsschäden und deren Ursachen. (Prakt. Blätter Pflanzenbau u. Pflanzenschutz. Bd. 10. (N. S. 5.) 1907. S. 51—59.) — 14. Hoffer, G. N., and Carr, R. H., Accumulation of aluminium and iron compounds in corn plants and its probable relation to root rots. (Journ. Agr. Res. Vol. 23. 1923. p. 801—821.) — 15. Hoffer, G. N., and Trost, J. F., The accumulation of iron and aluminium compounds in corn plants and its probable relation to root rots. II. (Journ. Amer. Soc. Agron. Vol. 15. 1923. p. 323—330.) — 16. Ireland, J. C., Controlling influences in corn rot problems. (Bot. Gaz. Vol. 86. 1928. p. 249—269.) — 17. Jensen, H. L., The fungus flora of the soil. (Soil Sci. Vol. 31. 1931. p. 123—158.) — 18. Jones, L. R., and Tisdale, W. B., The influence of soil temperature upon the development of flax wilt. (Phytopath. Vol. 12. 1922. p. 409—413.) — 19. Jones, L. R., The relation of environment to disease in plants. (Amer. Journ. of Botany. Vol. 11. 1924. p. 601—609.) — 20. Jones, L. R., Johnson, J., and Dickson, J. G., Wisconsin studies upon the relation of soil temperature to plant disease. (Wis. Agr. Exp. Sta. Res. Bull. 71. 1926.) — 21. Korff, Beobachtungen der Bayrischen Pflanzenschutz-Organisation über die diesjährige Auswinterung des Wintergetreides. (Prakt. Blätter Pflanzenbau u. Pflanzenschutz. Bd. 2. 1924. S. 47—53 und Bd. 4. 1924. S. 76—83.) — 22. Kulkarni, G. S., and Mundkur, B B., Studies in the wilt disease of cotton in the Bombay Karnatak. Series I. II. III. (Mem Dept. of Agr. India Bot. Ser. Vol. 17. 1928. 27 p.) — 23. Lundegardh, H., Die Bedeutung des Kohlensäuregehalts und der Wasserstoffionenkonzentration des Bodens für die Entstehung der Fusariosen. (Bot. Notiser. 1923. p. 25—52.) — 24. McRae, W., and Shaw, F. J. F., Influence of manures on the wilt disease of Cajanus indicus Spreng. and the isolation of types resistant to the disease. (Imper. Council of Agric. Res. Scient. Monograph. 7. 1933. 68 p.) — 25. Moore, W. D., Corn root and ear rot studies. (Forty-fourth Ann. Rept. New Jersey Agr. Exp. Sta. for the year ending June 30, 1923. 1924. p. 404, 407.) — 26. Moritz, O., Entstehungsbedingungen und Verhütungsmöglichkeiten der Ophiobolose des Weizens. Vorläufige Mitteilung. (Nachrichtenbl. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Bd. 11. 1931. S. 100—101.) — 27. Moritz, O., Weitere Studien über die Ophiobolose des Weizens. (Arb. Biol. Reichsanst. f. Land- u. Forstwirtsch. Bd. 20. 1932. S. 27—48.) — 28. Poole, R. F., The stem rot of Sweet Potatoes. Losses, sources of infection and control. (New Jersey Agr. Exp. Sta. Bul. 401. 1924. 32 p.) — 29. Porter, D. R., and Melhus, I. E., The Pathogenicity of Fusarium niveum (E. F. S.) and the Development of Wilt Resistant Strains of Citrullus vulgaris (Schrad.) (Agr. Exp. Sta. Iowa State College of Agr. a. Mechanic Arts. Res. Bul. No. 149. 1932. p. 1—184a.) — 30. Rathbun-Gravatt, Annie, Direct inoculation of coniferous stems with damping-off fungi. (Journ. Agric. Res. Vol. 30. 1925. p. 327—339.) — 31. Reinking, O. A., Fusaria inoculation experiments. Relationship of various species of Fusaria to wilt and Colorado disease of banana. (Phytopath. Vol. 16. 1926. p. 371—392.) — 32. Reinking, O. A., Interesting new fusaria. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 89. 1934. S. 509—514.) — 33. Reinking, O. A., Parasitic and other fusaria counted in Costa Rica and

Panama soils. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 90. 1934. S. 6—17.) — 34. Reinking, O. A., The distribution of banana wilt. (Philipp. Journ. of Sci. Vol. 53. 1934. p. 229—243.) — 35. Reinking, O. A., and Manns, M. M., Parasitic and other fusaria counted in Tropical Soils. (Ztschr. f. Parasitenkunde. Bd. 6. 1933. S. 23—75.) — 36. Reinking, O. A., and Manns, M. M., Parasitic and other Fusaria counted in Colombia soils. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 89. 1934. S. 502—509.) — 37. Reinking, O. A., and Wollenweber, H. W., Tropical fusaria. (Philippine Journ. Sci. Vol. 32. 1927. p. 103—253.) — 38. Russell, E. J., The micro-organism of the soil. (The Rothamsted Monographs on Agr. Sci. 1923.) — 39. Sanford, G. B., and Broadfoot, W. C., Studies of the effects of other soil-inhabiting micro-organisms on the virulence of Ophiobolus graminis Sacc. (Scienc. Agr. Vol. 11. 1931. S. 512—528.) — 40. Schaffnit, E., and Meyer-Hermann, K., Über den Einfluß der Bodenreaktion auf die Lebensweise von Pilzparasiten und das Verhalten ihrer Wirtspflanzen. (Phytopath. Ztschr. Bd. 2. 1930. S. 99—166.) — 41. Scott, I. T., The influence of hydrogen-ion concentration on the growth of Fusarium lycopersici and on Tomato wilt. (Missouri Agr. Exp. Sta. Res. Bul. 64. 1924. 32 p.) — 42. Sherwood, E. C., Hydrogen-ion concentration as related to the Fusarium wilt of tomato seedlings. (Amer. Journ. of Botany. Vol. 10. 1923. p. 537—552.) — 43. Skinner, C. E., What organisms are responsible for the decomposition of cellulose in the soil? (Abs. of Bact. Vol. 9. 1925. p. 32.) — 44. Thorold, C. A., Fusarium wilt disease of Sunn Hemp. II. (Trop. Agriculture. Vol. 8. 1931. p. 176—177.) — 45. Waksman, S. A., Microbiological analysis of soil as an index of soil fertility. I. The mathematical interpretation of numbers of micro-organisms in the soil. (Soil Sci. Vol. 14. 1922. p. 81—101.) — 46. Waksman, S. A., The growth of fungi in the soil. (Ibid. Vol. 14. 1922. p. 153—158.) — 47. Waksman, S. A., Principles of soil microbiology. Williams and Williams. 1927. — 48. Waksman, S. A., and Skinner, C. E., Microorganisms concerned in the decomposition of celluloses in the soil. (Journ. of Bact. Vol. 12. 1926. p. 57—84.) — 49. Waksman, S. A., and Starkey, R. L., Soil and the microbe. John Wiley & Sons. 1931. — 50. Waksman, S. A., and Stevens, K. R., Contribution to the chemical composition of peat: V. The role of microorganisms in peat formation and decomposition. (Soil Sci. Vol. 28. 1929. p. 315—340.) — 51. Walker, J. C., and Snyder, W. C., Pea Wilt and Root Rots. (Agr. Exp. Sta. Univ. Wis. Bull. 424. 1933. p. 1—16.) — 52. Wardlaw, C. W., The biology of Banana wilt (Panama disease). I. Root inoculation experiments. (Ann. of Botany. Vol. 44. 1930. p. 741—766.) — 53. Wollenweber, H. W., Pilzparasitäre Welkekrankheiten der Kulturpflanzen. (Ber. Dtsch. Bot. Gesellsch. Bd. 31. 1913. S. 17—34.) — 54. Young, V. H., Cotton wilt studies. I. Relation of soil temperature to the development of cotton wilt. (Arkansas Agr. Exp. Sta. Bull. 226. 1928. 50 S.) — 55. Zaprometoff, N. G., Diseases of the Cotton Plant. (Scient. Res. Inst. for Cotton Industry. Study series on Cotton pests and diseases.) Tashkent. Issue 1. 1929. 34 p. (English summary.) — 56. Plant Pathology and Physiology. (Forty third Ann. Rept. Texas Agr. Exp. Sta. 1930. p. 56—67.)

Untersuchungen an Kartoffelproben über die Beziehungen zwischen Knollenpotential und Virusbefall.

[Aus der Biologischen Reichsanstalt Berlin-Dahlem.]

Von **E. Köhler**, unter Mitwirkung von **A. Hey**.

Mit 1 Abbildung im Text.

Vor zwei Jahren berichtete Hey über die erfolgreiche Bestimmung des Nachbauwertes von Kartoffelproben mit einer physikalisch-chemischen Methode, deren Anwendbarkeit für die vorliegenden Bedurfnisse zuerst von Wartenberg erkannt und die dann von ihm in Gemeinschaft mit Hey diesen Bedürfnissen in glücklicher Weise angepaßt werden konnte. Es wird dabei das elektrische Potential gemessen, das an einer Platinelektrode entsteht, die in den mit Wasser verdünnten Schabebrei der zu prüfenden Kartoffelknolle taucht. Als Bezugsgröße bei der Messung dient das konstante Potential einer Kalomelelektrode, mit der die Kartoffelbreielektrode durch eine gesättigte Chlorkaliumbrücke in Doppelhalbelementschaltung verbunden wird. Wartenberg und Hey fanden, daß sich die Schabebreie abbaukranker und gesunder Knollen dadurch voneinander unterscheiden, daß die ersteren ein gegenüber der Kalomelelektrode stärker negatives Potential erreichen als die letzteren. Die gemessenen Werte werden in Millivoltzahlen ausgedrückt. Die konstanten Potentialwerte der gesunden Knollen wurden ungefähr im Bereiche von — 100 bis — 140 Millivolt (mV.) angetroffen, diejenigen der abbaukranken von — 210 bis — 300 mV. Eine „kritische Zone", in der sowohl gesunde wie abbaukranke Knollen vorkommen, liegt etwa zwischen — 140 und — 210 mV [1]).

Das Verfahren wurde kürzlich von O. Appel ausführlich beschrieben und gewürdigt. Ein Aufsatz von Friebe berichtete ferner über die erfolgreiche Anwendung des Verfahrens bei der praktischen Bestimmung des Herkunftswertes von Kartoffelproben.

Es erhebt sich die Frage, ob die von einer Reihe von Forschern vertretene Auffassung, daß in bestimmten Viruskrankheiten die eigentliche Ursache des Kartoffelabbaues zu erblicken sei, mit den Ergebnissen der Potentialmessung in Einklang zu bringen ist. Wenn diese Auffassung richtig ist, so muß man erwarten, daß diejenigen Knollen, bei denen die stark negativen Potentialwerte ermittelt werden, mit abbaubewirkenden Viruskrankheiten behaftet sind und daß anderseits Knollen, die die am wenigsten negativen Werte aufweisen, mit solchen Krankheiten nicht behaftet sind.

Die Untersuchungen, über die im folgenden berichtet wird, sollten diesen mutmaßlichen Zusammenhang zwischen Potentialwert und Virusbefall zu klären suchen und so zur Überbrückung der noch bestehenden unterschiedlichen Auffassungen über das Wesen des Kartoffelabbaues, ins-

[1]) Die Vorstellung ist begründet, daß das Potential der Platinelektrode unter dem Einfluß von Reduktions-Oxydationssystemen des Schabebreies gebildet wird, und daß den festgestellten Potentialunterschieden zwischen abbaukranken und gesunden Knollen Differenzen in Reduktions-Oxydationskräften entsprechen; Aziditätsdifferenzen, welche solche Unterschiede verursachen konnten, sind zwischen den Schabebreiaufschlammungen nicht festzustellen gewesen. (Wartenberg, Vortrag vor der Botanikerversammlung in Marburg. 1934.)

besondere auch über die Rolle der Viruskrankheiten bei dieser Erscheinung, beitragen.

Methodik.

Das Verfahren bestand darin, daß an jeder einzelnen Knolle eine Potentialbestimmung und parallel damit eine Prüfung auf etwaigen Virusbefall vorgenommen wurde. Dazu mußten die Knollen halbiert werden. Zur Potentialmessung mußte die eine, zur Virusanalyse die andere Hälfte Verwendung finden. Nach den vorliegenden Erfahrungen ist nun zwar mit hoher Wahrscheinlichkeit damit zu rechnen, daß sich die beiden Hälften in Bezug auf Virusbefall übereinstimmend verhalten und daher vergleichbar sind, jedoch ist durchaus nicht immer eine hundertprozentige Übereinstimmung zu erwarten. Es kann vorkommen, daß das Virus in den Knollen ungleich verteilt ist, daß die eine Hälfte ein Virus enthält, das der anderen fehlt. Es müssen hier die diesbezüglichen Erfahrungen von Folsom und Schultz an ausgepflanzten Knollenhälften („Tuber units“) zu Hilfe genommen werden. Unter 100 befallenen Knollen fanden sich nach den Angaben dieser Forscher teilweise kranke Knollen (eine Hälfte krank, die andere gesund):

bei Mosaik (verschiedene Proben) 8; 0,3; 5,2; 0,7 Prozent
bei Spindel tuber 2; 0,6 Prozent
bei Blattroll 16 Prozent

Die Schwankungen sind demnach recht beträchtlich. Wie sind sie zu erklären? Offenbar sind teilweise kranke Knollen immer das Ergebnis von Primärinfektionen. Hingegen sind nach allgemeiner Erfahrung Knollen von sekundärkranken Pflanzen, also solchen, die selbst schon von viruskranken Pflanzen stammen, in allen Teilen vom Virus durchsetzt. Dem entspricht offenbar auch die Erfahrung von Folsom und Schultz, daß in stark abgebauten Beständen der Prozentsatz an teilweise kranken Knollen nur sehr gering war. Die größte Zahl teilweise infizierter Knollen wird dann zu erwarten sein, wenn gesundes Pflanzgut in mäßig infektionsgefährdeter Lage angebaut wird. In stärker infektionsgefährdeter Lage werden sich die Chancen für das Zustandekommen unvollständiger Infektionen wieder verringern, weil die Durchseuchung der Pflanzen mit der Zunahme der Infektionshäufigkeit im ganzen intensiver werden muß. Somit ergibt sich, daß einzelne Fälle von Abweichung im Verhalten der beiden Knollenhälften nicht ohne weiteres etwa einem fehlerhaften Arbeiten der Methode zur Last gelegt werden dürfen.

Knollen der Ernte 1933 wurden der Länge nach halbiert. Dabei wurde Vorsorge getroffen, daß keine Virusübertragung mit dem Wundsaft eintreten konnte. Um die Korkbildung an den Schnittflächen zu fördern, wurden die geschnittenen Stücke zunächst im feuchten Raum ausgelegt. Die Potentialmessung der Proben wurde in dankenswerter Weise von Herrn Dr. A. Hey übernommen. Die für die Virusuntersuchung bestimmten Hälften wurden im Gewächshaus im abgeschwächten Licht vorgekeimt. War die Bildung der Keime weit genug fortgeschritten, so wurde aus jeder Hälfte ein Stück ausgeschnitten, das ein kräftig keimendes Auge enthielt. Die Stücke („Augenstecklinge“) wurden vom Februar ab auf engem Raum nebeneinander in Holzkästen[1]) gepflanzt (Abb. 1). Die Reststücke wurden zurückgelegt, um im Frühjahr auf dem Feld ausgelegt zu werden.

[1]) Es empfiehlt sich nicht, den „Standraum“ der Stecklinge weiter zu bemessen, da dann die Blattrollsymptome in der Regel mit sehr großer Verzogerung erscheinen.

Das Wachstum der Augenstecklinge in den Kästen wurde genau verfolgt und über alle Krankheitserscheinungen wurden Aufzeichnungen gemacht. Es zeigte sich, daß es notwendig ist, die Kästen 9—10 Wochen stehen zu lassen, da die Symptome der Blattrollkrankheit wie auch des eigentlichen Streak (Strichelkrankheit) erst nach 6—8 Wochen mit der erforderlichen Deutlichkeit hervortraten.

Im Laufe der Untersuchung stellte sich heraus, daß bei entsprechender Kenntnis der Sorte eine hinreichend sichere Beurteilung des Pflanzwertes an der Stecklingsprobe möglich ist, eine erheblich weniger sichere jedoch an den Feldpflanzen, weil bei ihnen einerseits leichte Mosaikerkrankungen maskiert seien, andererseits Erscheinungen auftreten können, die nicht viröser Natur

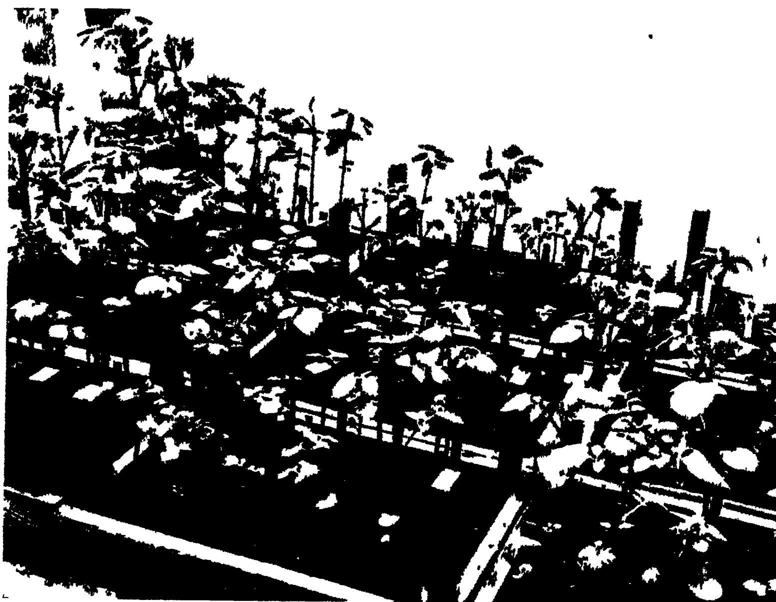


Abb. 1. Prufung von Augenstecklingen im Gewachshaus. (Naheres im Text.)

sind und daher zu Mißdeutungen Anlaß geben. Voraussetzung ist allerdings, daß die Knollen beim Ansetzen zum Stecklingsversuch die Ruheperiode hinter sich haben und daß den Pflanzen genügend Licht zur Verfügung steht. Brauchbare Ergebnisse sind daher in unseren Breiten frühestens zu erzielen, wenn die Stecklingsproben Anfang Februar angesetzt werden.

Zum Nachweis der mit dem Saft ubertragbaren Mosaikviren, insbesondere des Ringel- (= X) und des Streak- (= Y) Virus, wurden von den Augenstecklingen Übertragungen auf junge Pflanzen der als Testpflanze bewährten Tabaksorte „Samsun" vorgenommen, wobei die bekannten Einreibemethoden in Anwendung kamen (Holmes 1929. Samuel 1931)[1]. Von jeder Stecklingspflanze wurden mindestens 2 Tabakpflanzen eingerieben. Mit diesem Verfahren konnten freilich solche Viren, welche wie die vom Verf.

[1]) Diagnostische und methodische Einzelheiten sind der Mitteilung III (Köhler, Phytop. Ztschr. 1933. Bd. 6) zu entnehmen.

früher nachgewiesenen „E 8“ und „E 9“ auf der Kartoffel und auf dem Tabak latente Infektionen bilden, nur ungenau oder gar nicht erfaßt werden. Die Bedeutung derartiger Viren im Rahmen der Abbaufrage scheint jedoch wegen ihrer relativen Harmlosigkeit gering zu sein, so daß sie — wenigstens vorläufig — vernachlässigt werden dürfen, ohne daß dadurch eine wesentliche Störung des Ergebnisses zu befürchten wäre.

Die Übertragung des Blattrollvirus auf die Testpflanzen führte nicht immer zum Ziel. Zur Übertragung wurden Blattläuse der Art Myzus persicae verwendet, die, nachdem sie an Blättern der Stecklingspflanzen gesogen hatten, auf keimende Kartoffeln übertragen wurden. (Zur Methodik vgl. Köhler, Untersuchungen II.) Das schon im Frühsommer einsetzende, andauernde intensive Sonnenwetter machte die fast ununterbrochene Schattierung des Gewächshauses erforderlich, so daß die Symptome an den Testpflanzen meist nur ungenügend zum Vorschein kamen. Zum Nachweis des Blattrollvirus wurde deshalb in erster Linie das Verhalten der Stecklingspflanze selbst herangezogen, wodurch eine Bestimmung mit hinreichender Sicherheit möglich war.

Versuche.

1. Industrie.

Von der Sorte Industrie wurden 2 Herkünfte der Ernte 1933 untersucht, nämlich eine aus Schlawe (Pommern) und eine aus Mechow (Prignitz) stammende. Die Anbauorte der Herkunft Mechow waren in früheren Jahren folgende gewesen: 1932 Mechow, 1931 Schlawe, 1930 Schlawe. Die Herkunft Schlawe hatte seit 1930 ihren Anbauort nicht gewechselt. Demnach war die Herkunft Mechow zum Unterschied von der Herkunft Schlawe 2 Jahre hindurch den Einflüssen des Mechower Standortes ausgesetzt gewesen. Bei 5 von den geprüften 30 Knollen der Schlawer Herkunft konnten sichere Potentialwerte nicht erzielt werden, da bei der Messung keine Potentialkonstanz eintrat, desgleichen nicht bei 8 von 30 Knollen der Mechower Herkunft. Das Ergebnis der Untersuchung ist in Tab. 1 niedergelegt. Links sind die in Klassen zusammengefaßten Potentialwerte angegeben, rechts das Virusverhalten der in die einzelnen Wertklassen fallenden Knollen.

Für Schlawe ergibt sich, daß in dem Bereich zwischen — 120 und — 179 mV. insgesamt 21 virusfreie und keine einzige kranke Pflanze angetroffen wurde. Eine virusfreie und zwei schwach viruskranke Knollen fanden sich in der Wertklasse — 180 bis — 189 mV. und eine schwach viruskranke fiel in die Klasse — 200 bis — 209 mV.

Für Mechow ergibt sich folgendes:

Nur virusfreie Pflanzen (insgesamt 11) fallen in den Bereich von — 120 bis — 169 mV. In die Klasse — 170 bis — 179 mV. fallen zwei virusfreie und drei kranke, von letzteren sind zwei mit dem X-Mosaikvirus und eine mit dem Y-Mosaikvirus befallen. In die Gruppe — 180 bis — 189 mV. fallen 4 Pflanzen, von denen nur eine virusfrei ist. Von den drei kranken ist eine mit dem X-Virus behaftet, eine andere zeigt infolge von Mischinfektion mit X und Y schwere Krankheitserscheinungen, eine dritte erweist sich als blattrollkrank. Die letztere zeigt im Stecklingsversuch kräftige Anthozyanfleckung auf der Blattunterseite und leichte chlorotische Verfärbung der Blätter. Eine Pflanze im Bereich — 210 bis — 219 mV

ist mit dem Y Virus befallen, eine andere (im Bereich 220—229 m. V.) mit dem X-Virus. Bei beiden Herkünften ergibt sich demnach eindeutig eine Zunahme der Viruserkrankung parallel mit dem Ansteigen der Potentialwerte. Die kritische Zone, die Zone, die sowohl vitale wie abgebaute Pflanzen umfaßt, würde nach den vorliegenden Befunden zwischen — 175 bis — 185 mV. anzunehmen sein. Bemerkenswert ist ferner, daß nicht nur das Y- sondern auch das X-Virus ein Ansteigen der Potentialwerte verursacht. Es deckt sich diese Erscheinung mit der Erfahrung, daß „Industrie" dem X-Virus gegenüber keine so ausgesprochene Toleranz aufweist, wie viele andere Sorten.

Betrachten wir nun noch das Ergebnis der Virusanalyse derjenigen Knollen, bei denen bei der Messung keine Potentialkonstanz zu erreichen war und die deshalb in Tab. 1 nicht unterzubringen sind. Das Ergebnis lautet für Mechow:

virusfrei	4 Knollen
X-Mosaik	2 „
Y-Mosaik	2 „

Die 5 entsprechenden Knollen der Herkunft Schlawe erwiesen sich sämtlich als virusfrei.

Tab. 1. Industrie.

Potentialwerte mV	Schlawe	Mechow
— 120 bis — 129	◎	◎
— 130 „ — 139	◎	
— 140 „ — 149	◎◎◎	◎◎
— 150 „ — 159	◎◎	◎◎◎
— 160 „ — 169	◎◎◎	◎◎◎◎◎
— 170 „ — 179	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎	◎◎ + × ×
— 180 „ — 189	◎◈◈	◎ × ■ ▼
— 190 „ — 199		
— 200 „ — 209	◈	
— 210 „ — 219		+
— 220 „ — 229		×

Zeichenerklärung: ◎ virusfrei; ◈ unbekanntes, halblatentes Virus; × X-Mosaik; + Y-Mosaik; ■ Mischmosaik X + Y; ▼ Mischmosaik X + Y und Blattrollvirus.

Aus dem Vergleich der beiden Herkünfte läßt sich mit hoher Wahrscheinlichkeit folgern, daß sich die Kartoffeln während ihres zweijährigen Aufenthalts in Mechow Infektionen mit dem X- und Y-Mosaikvirus, zwei weitverbreiteten Kartoffelviren, zugezogen haben. Annähernd die Hälfte der geprüften Knollen erwies sich als befallen. Blattrollkrankheit wurde nur in einem Fall angetroffen. Diese Krankheit trat in Mechower Proben auch an anderen Sorten nur in geringer Häufigkeit auf.

2. Magnum bonum.

Von der Sorte Magnum bonum wurden 3 Herkünfte der Ernte 1933 untersucht. Eine stammte aus Mechow, eine zweite aus Stade (oberhalb Hamburgs) und eine dritte vom Versuchsfeld der Biologischen Reichs-

anstalt in Dahlem. Jede Herkunft umfaßte 30 Knollen. Die früheren Anbauorte der drei Herkünfte sind aus nachstehender Zusammenstellung ersichtlich:

	1933		1932		1931
Herkunft:	Stade	←	Stade	←	Klein-Boschpol (Krs. Lauenburg i. Pommern)
,, :	Mechow	←	Mechow	←	Klein-Boschpol
,, :	Dahlem	←	Mechow	←	Klein-Boschpol

Bei der Potentialmessung konnte bei 12 Knollen der Probe Mechow, bei 5 Knollen der Probe Stade und bei 14 Knollen der Probe Dahlem keine Konstanz erzielt werden. Alle diese Knollen fielen daher für die Potentialbestimmung aus. Vermutlich rührt die hohe Zahl der ausfallenden Meßversuche daher, daß die Jahreszeit schon etwas zu weit fortgeschritten war[1]). Das Verhalten der übrigen, meßbaren Knollen geht aus folgender Zusammenstellung (Tab. 2) hervor.

Tab. 2. Magnum bonum.

Potentialwerte mV	Mechow	Stade	Dahlem
— 145 bis — 149	◎		
— 150 ,, — 154	◎		
— 155 ,, — 159	◎◎◎■		
— 160 ,, — 164	◈		
— 165 ,, — 169	◈■	◎	
— 170 ,, — 174	◎	◎◎	
— 175 ,, — 179	▼	◎◎◎◎	
— 180 ,, — 184	◎	◎◎◎◎◈	
— 185 ,, — 189	◎■	◎◎◎◎◎◎◈▼	▼▼▼▼
— 190 ,, — 194	◈	◈◈◈	▼▼▼▼
— 195 ,, — 199		◈◈	▼▼▼
— 200 ,, — 204			▼
— 205 ,, — 209	■▼		
— 210 ,, — 214			▼▼
— 215 ,, — 219			▼
— 220 ,, — 224			▼
— 225 ,, — 229	■		

Zeichenerklarung: ◎ gesund (nicht abgebaut), nur mit X behaftet; ◈ schwach krank, außer mit X mit anderem schwachem Virus behaftet; ■ Virusgemisch X + Y; ▼ Blattrollvirus mit X-Mosaik allein oder im Gemisch mit anderen Viren.

Bei den vorgenommenen Tabakabreibungen zeigte sich, daß das X-Virus in sämtlichen 90 untersuchten Knollen der 3 Proben enthalten war. Die Sorte ist gegen dieses Virus augenscheinlich hochtolerant, was sich auch darin äußert, daß die Feldpflanzen einen vollkommen normalen, gesunden Eindruck machen. Bei der Stecklingsprobe im Gewächshaus traten hingegen an den Blättern die typischen Symptome des X-Virus, allerdings in etwas

[1]) Wartenberg und Hey erklären, daß die Feststellung eines konstanten Potentiales nur dann möglich ist, wenn sich die Knollen im Zustand der Winterruhe befinden. Daß die Knollen einer Herkunft und Sorte nicht genau gleichmäßig ihre Winterruhe beenden, daß also das Ende der Winterruhe der Individuen eines Materials sich über eine gewisse Zeit verteilt, muß unter der Berücksichtigung der fluktuierenden Variation als wahrscheinlich angenommen werden.

unterschiedlicher Stärke in Erscheinung (vgl. Köhler, Mitt. III, Abb. 4, und Mitt. I, Abb. 1). Weitaus am gesundesten war die Herkunft Stade. 12 Knollen enthielten nur das X-Virus. 7 Knollen enthielten außerdem schwache, andersartige Virusinfektionen, die nicht näher bestimmt werden konnten; das Y-Virus fehlte gänzlich und auch das Blattrollvirus war nur in einem einzigen Fall vertreten. Betrachtet man die Verteilung auf die Potentialwerte. so findet man wieder, daß sich die gesunden Pflanzen vorwiegend auf die niedrigen, die kranken vorwiegend auf die höheren Zahlenwerte der Potentiale verteilen. Die Korrelation ist unverkennbar. Völlig anders verhält sich die Herkunft Dahlem. Die sämtlichen gemessenen Knollen enthielten das Blattrollvirus und bis auf zwei außerdem noch das Y-Virus. Im ganzen, einschließlich der Knollen, deren Potential nicht festgestellt werden konnte, traten das Y- und das Blattrollvirus in der Herkunft Dahlem mit folgender Häufigkeit auf: Y-Mosaik 26 mal, Blattroll 30 mal = 100%. Die Zahlenwerte der Potentiale liegen im Durchschnitt bedeutend höher als bei der Stader Herkunft. Die niedrigsten Werte liegen bei — 185 mV., der höchste bei — 222 mV. Immerhin ist die starke Überschneidung im Bereich — 185 bis — 189 mV. bemerkenswert. Dieses Intervall dürfte etwa der „kritischen Zone" entsprechen.

Fügen sich nun, wie wir gesehen haben, die beiden Proben Stade und Dahlem der Erwartung, so fällt die Probe Mechow deutlich aus dem Rahmen. Die Streuung der Potentialwerte umfaßt hier — nach oben und unten — einen sehr großen Bereich, nämlich von — 148 bis — 229 mV. Was die Krankheitsfälle anbetrifft, so ist auffallend, daß auf den Bereich — 155 bis — 179 mV. immerhin 3 stark abgebaute Pflanzen entfallen, nämlich zwei Y-kranke mit — 155 und — 165 mV. und eine blattrollkranke (— 179 mV.), in Grenzen also, in denen nur gesunde, nicht jedoch abgebaute Pflanzen zu erwarten sein sollten. Nach unseren einleitenden Ausführungen ist es nicht ausgeschlossen, daß einzelne Abweichungen darauf beruhen, daß die betreffenden Knollen nur teilweise krank waren. Im vorliegenden Fall ist nun aber die Zahl der Abweichungen besonders groß und es fragt sich, ob diese Erklärungsmöglichkeit ausreichend ist. Nimmt man an, daß sich in der Probe nur die drei teilweise infizierten Knollen befunden hätten, die aus dem Rahmen fallen, so wäre es ein merkwürdiger Zufall, daß immer gerade die infizierte Hälfte für die Stecklingsprobe Verwendung gefunden hätte. Nach der Wahrscheinlichkeit könnten unseren 3 Ausnahmeknollen ebensoviele andere entsprechen, bei denen sich die Sache umgekehrt verhalten hätte, bei denen also die gesunde Hälfte zur Stecklingsgewinnung verwendet worden wäre und die kranke zur Potentialmessung. Wir sehen nun aber im Gegenteil eine ganz normale Verteilung der gesunden Knollen auf die niedrigen Millivoltklassen (— 145 bis — 189 mV.), in den höheren Klassen fehlen sie gänzlich. Es muß also nach einer anderen Erklärung gesucht werden. Ohne Schwierigkeit würde sich der Widerspruch lösen, wenn etwa die Annahme zutreffen würde, daß diejenigen Knollen primärinfizierter Pflanzen, in die nur wenig Virus eingedrungen ist, die Potentialwerte gesunder Knollen zeigen. Die Mechower Lage gehört nach allen vorliegenden Erfahrungen offenkundig zu denen, wo alljährlich mit einer mäßigen Verseuchung zu rechnen ist, wo also die Voraussetzungen für ein häufiges Vorkommen von nur schwach primärinfizierten Knollen zutreffen. Man könnte sich vorstellen, daß das Virus in solchen Knollen nicht stark genug ist, um den Stoffwechsel pathologisch zu verändern, dagegen würde

die aus einer solchen Knolle erwachsende Pflanze abbaukrank werden, weil sich das Virus in ihr entsprechend vermehren und kräftigen könnte. Die Annahme, daß die mit einer schwachen Dosis Virus behafteten Knollen bei der Potentialmessung wie gesunde reagieren, wäre demnach einleuchtend.

Vergleicht man übrigens die Potentialwerte der gesunden Knollen bei den Herkünften Mechow und Stade, so fällt auf, daß die Streuung bei den beiden Herkünften eine recht verschiedene ist. Es ist bemerkenswert, daß sich bei der zweifellos gesunderen Herkunft Stade diese Werte entgegen der Erwartung auf die höheren Klassen von — 165 mV. an verteilen, wogegen bei Mechow die niederen Klassen von — 145 bis — 164 mV. vertreten sind. Offenbar ist die Lage und Form des Streukegels außer vom Virusbefall auch von anderen Einflüssen abhängig. Unser Beispiel lehrt, daß es unrichtig wäre, jede Verschiebung nach der negativen Seite von vornherein als Zeichen für Abbau zu werten. Offenbar können schwächere Verschiebungen, die nichts mit Abbau zu tun haben, sowohl nach oben wie nach unten auch an gesundem Material vorkommen. Es wird eine Spezialaufgabe sein, derartige Schwankungen auf ihre Ursachen zurückzuführen. Vielleicht gibt die Veröffentlichung des von Wartenberg und Hey bearbeiteten, umfangreichen Untersuchungsmateriales Anhaltspunkte für weitere Aufschlüsse in dieser Richtung.

Was endlich das Ergebnis der Virusanalyse bei den nicht meßbaren Knollen anbetrifft, so wurde bei allen 3 Herkünften festgestellt, daß sich unter ihnen sowohl abgebaute als auch gesunde befanden. Beispielsweise zeigten die nicht meßbaren Knollen der Mechower Probe folgenden Befall:

X-Mosaik allein	7 Knollen
Gemisch X + Y	4 „
Gemisch X + Y + Blattroll	1 „

Der Virusfaktor ist sonach nicht bestimmend für die Meßbarkeit, eine Tatsache, die auch bei anderen Proben festgestellt wurde.

3. Sorte Klein-Spiegeler Wohltmann.

Von dieser Sorte stand eine Mischprobe von 60 Knollen zur Verfügung, die sich aus 30 Knollen „Originalpflanzgut“ aus Klein-Spiegel und 30 Knollen Dahlemer Herkunft zusammensetzte. Letztere war im Vorjahre, gleichfalls als Original, aus Klein-Spiegel bezogen worden. Bei der Messung der Potentialwerte mußten wiederum 10 Knollen ausscheiden, weil bei ihnen keine Konstanz zu erzielen war. Das Verhalten der übrigen 50 Knollen ist aus der Übersicht (Tab. 3) zu entnehmen. Nur 3 von diesen erwiesen sich als virusfrei. Weitere 21 waren nur vom X-Virus befallen; diese waren praktisch gesund und nicht abgebaut. Eine Knolle enthielt das Mosaikgemisch X + Y (mV. = — 165), diese erwies sich als „abgebaut“. 25 Knollen waren blattrollkrank und stark abgebaut. Von den blattrollkranken waren, was aus der Tabelle 3 nicht zu ersehen ist, die meisten außerdem mit anderen Viren behaftet:

	Anzahl Knollen	Potential m V
blattroll allein	1	(— 184)
blattroll + X-Mosaik	18	(— 153 bis — 187)
blattroll + Y-Mosaik	3	(— 143; — 157; — 172)
blattrollkrank + Y- und X-Mosaik	3	(— 175: — 186; — 186)

Befall mit dem Blattrollvirus ist augenscheinlich stets gleichbedeutend mit ungunstigem Potentialwert; dabei ist es gleichgültig, ob neben dem Blattrollvirus noch ein anderes zugegen ist. Dies hat sich auch schon oben bei der Sorte Magnum bonum gezeigt.

Tab. 3. Kl. Sp. Wohltmann (Mischprobe).

Potentialwerte mV	
— 110 bis — 119	× × ×
— 120 „ — 129	◎ × × × × ×
— 130 „ — 139	◎ × × × × × ×
— 140 „ — 149	◎ × × ▼
— 150 „ — 139	× × × × ▼ ▼ ▼
— 160 „ — 169	■ ▼ ▼ ▼ ▼ ▼
— 170 „ — 179	× ▼ ▼ ▼ ▼ ▼ ▼ ▼ ▼ ▼
— 180 „ — 189	▼ ▼ ▼ ▼ ▼ ▼ ▼

Zeichenerklarung: ◎ virusfrei (nicht „abgebaut); × mit X-Mosaik behaftet (nicht „abgebaut“); ■ Mischmosaik X + Y; ▼ Blattroll, allein oder ein Gemisch mit anderen Viren.

Auch bei der vorliegenden Probe erweist sich, daß die mit abbaubewirkenden Viren oder Viruskombinationen behafteten Knollen durchweg hohe negative Werte aufweisen. Die kritische Zone, in der sowohl abbaukranke wie nicht abbaukranke Knollen vorkommen, entspricht etwa dem Intervall — 140 bis — 159 mV. Unter — 140 mV. sind die Pflanzen nicht abbaukrank, über — 160 mV. sind sie, von einer Ausnahme abgesehen, abbaukrank. Somit ergibt sich eine recht befriedigende Übereinstimmung zwischen Erwartung und Befund.

4. Sorte Preußen.

Von der Sorte Preußen wurden zwei Herkünfte untersucht. Die eine, 60 Knollen umfassende Probe stammte vom Versuchsfeld der Biologischen Reichsanstalt in Dahlem, die andere, 30 Knollen umfassende, von dem unweit Berlin gelegenen Gut Albertshof. Über die Standorte in früheren Jahren war nichts Sicheres mehr zu ermitteln. Von den Knollen „Albertshof“ erwiesen sich 19 als meßbar, von den Knollen „Dahlem“ 36. Ihr Verhalten ist aus Tab. 4 ersichtlich. Betrachten wir zunächst die Herkunft Albertshof, so fällt wieder auf, daß die Zunahme der Viruserkrankung dem Ansteigen der Zahlenwerte der Potentiale parallel geht. Die drei einzigen virusfreien Knollen verteilen sich auf die vier niedrigsten Wertklassen von — 120 bis — 159 mV. Diese Pflanzen erwiesen sich nicht als abgebaut. Nicht abgebaut waren ferner die drei in die gleichen Wertklassen fallenden Knollen, die vom Y-Virus befallen waren. Die Sorte Preußen ist augenscheinlich für dieses Virus tolerant. Die in die höheren Wertklassen (von — 160 mV. ab) fallenden Pflanzen waren sämtlich als abgebaut anzusprechen. Von ihnen zeigten 4 Befall mit dem X-Virus, 5 Befall mit dem Virusgemisch X + Y. 4 Weitere enthielten das X-Virus, jedoch augenscheinlich nicht rein, sondern im Gemisch mit anderen Viren, die nicht näher bestimmt werden konnten. Das Blattrollvirus war in dieser Probe nicht enthalten. Bemerkenswert ist, daß die Sorte Preußen dem X-Virus gegenüber nicht voll tolerant ist. Noch viel schlechter schnitt die Her-

kunft Dahlem ab. Nicht weniger als 32 Knollen erwiesen sich als blattrollkrank, nur 4 enthielten das Blattrollvirus nicht. Von letzteren war aber keine einzige virusfrei. Eine von ihnen enthielt X allein, die 3 übrigen enthielten das Gemisch X + Y. Von den blattrollkranken Pflanzen enthielt weitaus der größte Teil noch das Gemisch X + Y.

Tab. 4. Preußen.

Potentialwerte mV	Albertshof	Dahlem
— 120 bis — 129	◎	
— 130 ,, — 139	◈	
— 140 ,, — 149	◎ ◈	
— 150 ,, — 159	◎ ◈	
— 160 ,, — 169	× × ■	
— 170 ,, — 179	× × + + ■ ■	■ ▼ ▼ ▼ ▼
— 180 ,, — 189	+ ■	◈ ■ ■ ▼ ▼ ▼ ▼ ▼ ▼ ▼ ▼ ▼ ▼ ▼ ▼ ▼ ▼ ▼ ▼
— 190 ,, — 199		▼ ▼ ▼ ▼ ▼ ▼ ▼
— 200 ,, — 209	■	▼ ▼ ▼
— 210 ,, — 219	+	▼
— 220 ,, — 229		▼

Zeichererklarung: ◎ virusfrei; ◈ Y-Mosaik; × X-Mosaik; + X-Mosaik, mischverdachtig; ■ Mischmosaik X + Y; ▼ Blattrollvirus allein oder im Gemisch mit anderen Viren.

Im ganzen, mit Einschluß der Knollen, deren Potential nicht gemessen werden konnte, traten die 3 wichtigsten Viren in der Dahlemer Probe mit folgender Häufigkeit auf:

X-Mosaik		44mal
Y-Mosaik		23 ,,
Blattrollvirus	mindestens	51 ,,

Allgemeine diagnostische Erfahrungen.

Bezüglich der Diagnose der 3 wichtigsten Vira (X-Mosaik, Y-Mosaik und Blattroll) an den Augenstecklingen wurden folgende Erfahrungen gemacht. Das X-Mosaik konnte, wenn es allein vorhanden war, an den X-toleranten Sorten Magnum bonum, Wohltmann und Erstling in der Regel an der typischen Fleckung der älteren Blätter erkannt werden. Kräuselungen traten bei diesen Sorten nicht auf. Bei Wohltmann und Magnum bonum machten einzelne Pflanzen insofern eine Ausnahme, als bei ihnen keine sicheren Symptome zum Vorschein kamen. Sie enthielten das Virus in sehr stark abgeschwächter Form, wie mit Hilfe der Tabakabreibungen festgestellt wurde. Anders verhielten sich „Preußen" und „Industrie". Bei ihnen äußerte sich das X-Virus vorwiegend an den jüngsten Blättern und zwar mit einer meist ziemlich starken Kräuselung, die mit einer lebhaften Grün- und Gelbscheckung verbunden war. Etwas milder waren die Erscheinungen bei Industrie. Infektionen mit besonders schwachen X-Stämmen sind auch bei diesen Sorten latent. (Eine Sorte, bei der das X-Mosaik stets latent bleibt, ist Edelweiß.)

Das Y-Virus verursachte an den Industriestecklingen typische Streakerscheinungen, bei Preußen blieb es latent.

Die Kombinationen X + Y, deren Nachweis am Tabak wegen der auffälligen Gelbstreifigkeit der Nerven nie versagt, wurde am Kartoffel-

steckling durch starkes Kräuselmosaik und allgemeine Wachstumshemmung angezeigt.

Kam das Blattrollvirus allein oder zusammen mit dem X-Virus vor, so war das hervorstechendste Merkmal immer die Bildung von Anthozyanflecken auf der Blattunterseite. Diese traten allerdings in der Regel erst nach 6 Wochen auf, nachdem das Wachstum des Stecklings zum Stillstand gekommen war, so bei Wohltmann, Magnum bonum und Industrie. Dazu kamen noch als weniger beständige Symptome leichte Rollerscheinungen, leichte chlorotische Verfärbungen und Verhärtung des Laubes. Durch Kümmerwuchs und eine auffällige, charakteristische Gelbchlorose der ganzen Pflanze war die Kombination des Blattrollvirus mit dem Y-Mosaik oder dem Gemisch X- + Y-Mosaik gekennzeichnet. Die Anthozyanbildung war dabei nicht selten ganz oder fast ganz unterdrückt, so daß in solchen Fällen eine Unterscheidung von der gleichfalls bösartigen Kombination X- + Y-Mosaik nicht in jedem Falle sicher möglich war.

Zusammenfassung.

An Kartoffelproben verschiedener Herkunft wurde die Frage geprüft, ob eine Beziehung besteht zwischen den bei der Knollenpotentialmessung (Methode von Wartenberg und Hey) sich ergebenden Werten und dem Befall mit bestimmten Viruskrankheiten. Dabei wurde so vorgegangen, daß die Knollen halbiert wurden; die eine Hälfte diente zur Potentialmessung, die andere zur Virusbestimmung. Es zeigte sich in der Tat, daß die vermutete Beziehung vorhanden ist, indem nachgewiesen werden konnte, daß der Befall mit abbaubewirkenden Viren im ganzen mit einer deutlichen Verschiebung der Potentialwerte nach der negativen Seite der Millivoltskala einhergeht. Nicht abbaubewirkende Viren, also solche, gegen die die betreffende Sorte einen hohen Grad von Toleranz besitzt, werden hingegen nicht durch eine solche Verschiebung angezeigt.

Die gewonnenen Ergebnisse sind eine starke Stütze für die von mir (7) früher schon vertretene Auffassung, daß die von Wartenberg und Hey zuerst festgestellte Potentialverschiebung ein Symptom des Befalls mit abbaubewirkenden Viren ist. Als die Ursache der Potentialverschiebung ist nicht das Virus selbst anzusehen, sondern die von ihm hervorgerufenen Veränderungen beim Stoffumsatz. Das Virus selbst macht sich, wenn es nicht in den Stoffwechsel eingreift, bei der Potentialmessung nicht bemerkbar. Ist die Pathogenität des Virus für die betreffende Sorte gering oder gleich Null, so ist dementsprechend auch der Einfluß des Virus auf die Potentialhöhe gering oder gleich Null. Das Potential ist somit ein Indikator für wirklichen „Abbau“.

Bei einer Probe wurden zum Teil günstigere Potentialwerte gemessen, als dem wirklichen Nachbauwert entsprach. Derartige Abweichungen dürften darauf beruhen, daß die von primärinfizierten Pflanzen stammenden Knollen nicht selten einen zu geringen Virusgehalt aufweisen, oder daß das Virus in ihnen ungleich verteilt ist.

Es liegen Anhaltspunkte dafür vor, daß Verschiebungen geringeren Grades, und zwar in beiden Richtungen der Skala, auch ohne Beteiligung des Virusfaktors möglich sind. Wieweit sie etwa ein Kennzeichen des sog. ökologischen Abbaues sind, steht dahin.

Die häufigsten und wichtigsten Viren sind nach dem Ergebnis der vorliegenden Untersuchung das Blattrollvirus und die Mosaikviren der X- und

Y-Gruppe (Ringmosaik- und Streakviren). Zweifellos können auch noch andere Viren als die genannten in den Knollen vorkommen, für die vorliegende Untersuchung waren sie jedenfalls von untergeordneter Bedeutung. Als bösartig erwiesen sich stets das Blattrollvirus und die Kombination des X- mit dem Y-Virus; die stärksten Potentialverschiebungen waren in der Regel auf dergleichen Infektionen zurückzuführen.

Schriftenverzeichnis.

1. Appel, O., Vitality and vitality determination in potatoes. (Phytopathology. 1934. Vol. 24. p. 482.) — 2. Folsom, D., and Schultz, E. S, Maine Agric. Exp. Station. Orono. Bull. 316. 1924 und Bull. 331. 1926. — 3. Friebe, P., Zur elektrometrischen Messung des „Abbaugrades" der Pflanzkartoffel. (Pflanzenbau. 1932/33. Bd. 9. S. 351.) — 4. Hey, A., Die Diagnose des Abbaugrades von Kartoffelknollen durch elektrometrische Messung. Vorl. Mitteilung. (Arb. Biol. Reichsanst. 1932. Bd. 20. S. 79.) — 5. Holmes, Fr. O., Bot. Gaz. 1929. Vol. 87. p. 39. — Americ. Journ. Bot. 1930. Vol. 17. p. 789. — 6. Kohler, E., Untersuchungen uber die Viruskrankheiten der Kartoffel. II. (Phytopath. Ztschr. 1933. Bd. 6. S. 359 und III. Ebenda 1934. Bd. 7. S. 1.) — 7. Köhler, E., Kapitel „Viruskrankheiten" in Sorauers Handb. d. Pflanzenkrankheiten. 1934. 1. Bd. (2. Teil), 6. Aufl. — 8. Samuel, G., Ann. Appl. Biol. 1931. Vol. 18. p. 494. — 9. Wartenberg, H., Vortrag auf der Botanikerversammlung in Marburg. 1934.

Micropedological Studies of the Influence of Different Organic Compounds upon the Microflora of the Soil.

[Department of Soil Microbiology, New Jersey Agricultural Experiment Station, New Brunswick, N. J., U. S. A.]

By **Walter Kubiena and Charles E. Renn.**

With 2 figures in the text and 3 plates.

I. Introduction.

It is a well known fact that the soil microflora shows specific changes by various treatment of the soil, particularly by the addition of easily decomposable organic substances. These changes of the microflora of the soil have been studied by a number of investigators. The following paper aims at introducing a new procedure to the treatment of the matter. The chief part of work will therefore be devoted to a test of the new method in this direction.

Contributions to the knowledge of the effect of organic substances added to the soil go back to Hiltner and Störmer (6) and Engberding (5). Conn found an increase of the development of actinomyces as a result of the addition of certain plant material (2) and found distinct changes of the microflora by the application of fresh manure (3). Barthel and Bengtson (1) studied the decomposition of cellulose brought into the soil in the form of stubbles and roots of different plants (wheat, rye, barley, oats, peas and vetches). They found that the rapidity of decomposition of all material except that of the leguminous plants in sandy soil, which was very poor in nitrogen, stood in direct proportion to the nitrogen contents of the additions. H. L. Jensen (7) stated a material increase of actinomyces by the addition of hornmeal, particularly of Actinomyces citreus (Krainsky) Waksman and Curtis and Actinomyces 145 Waksman.

In mixing soil with certain organic substances S. Winogradsky was able to show a distinct change of the microflora by his direct microscopic method. In the conse-

quence he developed the use of additions to his soil plate method for obtaining spontaneous cultures (20).

Of particular interest for this paper are the numerous investigations performed at the New Jersey Experiment Station to which the experiments of this publication may be looked upon as a continuation. From the results the following may be stated. Waksman and Starkey (17) found that dextrose in the soil favoured especially the development of bacteria, cellulose that of the fungi, rye straw and alfalfa meal that of both bacteria and fungi, besides which dried blood favoured also that of the actinomyces. The numbers of fungi increase more abundantly in acid soils than in those more neutral in reaction. The addition of available nitrogen greatly increased the development of fungi even in the case of straw which amount of nitrogen (about 0,7%) may be sufficient for the needs of bacteria but not for an abundant development of fungi. The soil of these experiments, a Sassafrass gravelly loam, was a similar soil as used for the investigations in this paper.

Starkey (15) measured the increase of the carbon dioxide evolution as a result of the addition of organic substances. He also found an increase of the decomposition of cellulose by the addition of available nitrogen. In 1933 Waksman (18), partly by direct microscopic methods, demonstrated the change of the microbial life in the soil as a result of additions. Among other examples a characteristic development of actinomyces was shown on dried blood particles which also favoured extensive development of bacteria and fungi in the soil. In the case of straw the sequence and types of fungi were found differently from those occurring upon pure cellulose. The Mucorales developed first, later followed by the typical cellulose-decomposing fungi. Waksman considered as typical cellulose-decomposing fungi in the soil species of Trichoderma, Humicola, Penicillium and Aspergillus. Of interest for the investigations in this paper it may be quoted that W. Daszewska (4) found also two species of Verticillium among the strongest cellulose-decomposing fungi in the soil, V. cellulosae and V. glaucum.

II. Methods.

Principle. The term "micropedological studies" is used in this and in preceding papers as a shorter expression for "direct microtechnical investigations of undisturbed, naturally developed soils". Their goal is not only the microscopic investigation of the microscopic elements that make up the soil but the performance of chemical and biological operations in this system. Since it is important to know how the separate soil constituents are arranged and how they are combined to form the natural soil, the observation of undisturbed soils is indispensable. This method also affords the only possible means of studying biological conditions of the soil spaces in situ. As with the morphological features, the processes operating in the soil are magnified so that many single activities taking place in the smallest spaces become observable.

Technique. Soil samples which have lost their natural structure or have been dried and pulverized in the laboratory are as little like soils in nature as piles of building-debris are like the former building. Not only the structure of the soil has been disturbed but many fragile constituents of the soil are destroyed. Attempts have often been made to prepare soils in their natural structures. The impossibility of making suitable thin sections of soil have undoubtedly inhibited the development of a soil microscopy; whereas, in the case of petrography the rapid development of microscopical methods was due to the facility with which sections of rocks and minerals could be made. Attempts to fix the soil with congealing liquids have little future in soil microscopy because such preparations do not permit further research, either microchemical or microbiological. Only the use of vertical light microscopes with freshly opened, structurally undisturbed soils promises satisfying results. The division and opening of soil without disturbing its microscopic structure may appear theoretically difficult. Cutting

the soil is rarely satisfactory because contusions at the planes are made in cutting. Nevertheless, the practical solution of this question is surprisingly simple. Experience shows that manipulations in breaking clods open or splitting thin slices from compact profile walls opens the soils at their splitting faces without disturbing the construction of the soil spaces or their contents. Such soils opened by splitting resemble a house, one half of which has been removed by collapse or has been carried off, the other half allowing a view into its floors, corridors, and rooms with all its furniture and inhabitants. Dividing more or less compact soils is performed best by thrusting an awl-shaped needle into them.

It is easily possible to see the soil spaces with the aid of a vertical light microscope magnified to such a size that individual treatment of the small objects and substrates inside, as well as the microorganisms growing on them is possible. As in micrurgy, which reached high development in general biology, all manipulations are performed under the microscope with the aid of special micro-tools, particularly micro-needles, micropincers, micropipettes, micro-lances, etc. These manipulations are generally so simple that the use of a micromanipulator and of other appliances used in the fine work of micrurgy (glass tools instead of resterilizable metal parts) can for the most part be dispensed with.

For further investigation of objects and for propagation of microorganisms, isolations and transfers to slides or artificial media must be performed by means of the above mentioned micro-tools. Details of the techniques of the different methods are given in previous publications (9, 10, 11, 12, 14), since a detailed description would go beyond the bounds of this paper.

Methods used in this work. In previous microtechnical studies the natural media in the soil have been searched out and the microorganisms growing on them have been investigated (10). In this work artificial nutrient substrates have been added to the soil mechanically, and their influence upon and transformation by the microflora has been studied. The artificial substrates have been added in the form of small particles of such size that their storage is permitted in the spaces of the loosened soil. The diameter of these particles was smaller than the usual diameters of the soil spaces so that the soil system was little influenced; soil and additions have neither been mixed to a paste, nor have other decisive changes in the normal character of the soil been made. As to the quantity of added material only that amount was applied which was necessary to make the particles to be easily found in the soil and to furnish sufficient numbers of parallel observations in every part of the soil. The added quantities equalled 0.3 to 0.7% of the weight of the soil.

Apparatus. The investigations have been carried out with the aid of the soil microscope designed by W. Kubiena and manufactured by the Optical Works of C. Reichert — Vienna. The instrument (11) is a normalized vertical light microscope which can be folded together into a space of only 5 × 7½ × 2 inches. In this form it can be put together with complete field equipment into a slender leather box in which it may be carried on excursions like a camera. It can be used on exposed soil profiles with free hand (hand stand) or mounted on a special cross slide stand which makes possible the attachment of the instrument directly to the profile wall and the performance of more detailed investigations. In the laboratory the soil microscope can be combined with a number of attachments for nearly every kind of vertical light illumination (opaque illuminators, round mirror objectives, etc.). A special detaching device on the frame making it possible to raise the tube of the microscope to a distance of 5 inches between the objective and working plane was particularly useful for the following investigations. With it it was possible to examine the 2 inch glass dishes used in the experiments, beyond the working range of the usual biological microscope.

The photographs were taken with the micro-camera developed by Czerny (C. Reichert — Vienna).

Concerning the investigation of soil fungi. Since loosened soil of moderate water content was used in this work, especially good development of

the fungi and actinomyces took place. Hence the chief part of work has been devoted to the investigation of these groups of organisms. The observations and manipulations upon these forms are relatively simple and particularly profitable. Micropincers were used extensively for the isolations of fungus mycelium. By transferring individually selected spores and hyphae to artificial media pure cultures could be obtained directly, without any intermediate manipulation. Generally, the following schedule of working is advisable: (1) Photographing or drawing the species found, in situ. (2) Measuring the soil spaces, noting all observations on organisms and their locations. (3) Isolating mycelium and fruiting bodies on slides for measuring and detailed investigation with transmitted light microscopes (soil forms). (5) Isolating the nutrient substrates, determining the microreaction, and microchemical investigations of the locations. (6) Investigating and measuring the organisms otbained on artificial media (culture forms).

Artificial media used. In order to faciliate microscopic investigation of the cultures with both vertical and transmitted light only transparent media were used. On such media it was possible to observe all details of development and individual selections for further work (culture forms) were easy to make. Woltje-agar was particularly suitable for nearly all fungi. The formula is as follows: 5 g asparagine (in solution), 2.5 g KH_2PO_4, 1.25 g $MgSO_4$, 37.5 g saccharose and 500 cc. water, (3% agar and adjusted to pH 4.5). Soil extract mannite agar (600 cc. soil extract obtained by autoclaving 1 kg. soil; with 3% mannite and 2% agar, pH 7) and sodium asparaginate-glycerol agar for actinomyces (1 g Na-Asparaginate, 10 cc. glycerol, 1.5 g. agar, 100 cc. water, pH 7) were used also.

III. Arrangement of Experiment.

On the 31st of March 1933 the experimental dishes were filled with added organic materials and soil from a ploughed field on the College Farm. The soil was taken during a rainless pause of two days following a long period of rainfall. It had dried to such an extent that it was just possible to crumble it. With the microscope only a thin, glassy film of water surrounding the crumbs was visible.

The moisture content of the soils taken at this time was about 15% (or 34% of the water holding capacity). The samples were prepared under sterile conditions. It was intended that only the native organisms of the soil and the air of the field should be included in the system. Experimental dishes and working tools were sterilized and the previously weighed and prepared quantities of organic additions were brought into the field in sterilized and sealed test tubes. In order to avoid chemical changes in these only the cellulose was sterilized (lignin, zein, and gum arabic were not treated). These latter were freshly prepared and well packed so that they proved to be almost free from organisms in their original packages. Special cultures without soil were prepared from the added materials in order to determine the kinds of organisms which might have been present originally in the additions.

Preparation of the soil samples: Sheets of waterproof paper were unrolled from a sterile packet and spread on the ground. By means of a metal spoon, sterilized over an alcohol lamp, a clod of freshly taken soil was broken and crumbled. Then one of the glass dishes was unwrapped from its protecting paper, in which it had been sterilized, and filled loosely with soil. The remainder of the soil on the paper was discarded. After having determined in this way the quantity of soil needed for filling the dish, the soil was emptied from the dish, placed on the paper again, and mixed with the desired added materials. Finally the dishes were filled once more with the mixture, covered, and labeled. One series was left without additions. Between every filling the working tools were cleaned and rester-

ilized over the alcohol lamp. It was intended thus to secure a soil sample in a state corresponding to the loosened soil prepared for seeding.

Of course the original field structure of the soil had to be disturbed by the filling of the dishes. But under the influence of the physical, chemical and biological processes acting in it the soil is developing to a new, well-organized unit, in this case even to a more or less compact body again. Only the initial stage was modified, nevertheless thoroughgoing alterations of this kind are apt to occur many times also in the field soil by its cultivation, by big rain falls etc. A profitable investigation has to be performed by all means (putting aside the necessity of opening the soil) at the undisturbed soil.

At the same time soil sections were cut out by micro-culture dishes (see 10) in order to get some samples of the dense field structure given by the earlier rain showers.

T h e e x p e r i m e n t a l d i s h e s. Special Pyrex glass vessels (Fig. 1) obtained from A r t h u r T h o m a s Company, Philadelphia, were used in this experiment. The smaller of these (diameter 70 mm. height 50 mm., manufactured under the name: Tanning dish, No. 4509) served to hold the

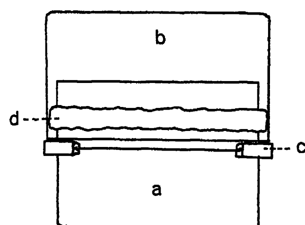


Fig. 1.

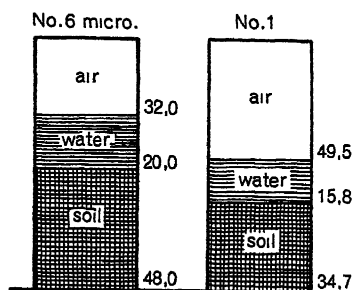


Fig. 2.

Fig. 1. Experimental dish. a — lower part, b — cover, c — cork pieces strung on rubber-band, d — cotton ring.

Fig. 2. Water and air conditions in the soil with dense field structure (dish No. 6 micro) and in loosened state (dish No. 1), Figures in volume percent.

soil, and the larger (diameter 80 mm., height 40 mm., trade name: Crystallizing dish No. 4507) was used as the cover. By means of small brick-shaped pieces of cork strung on rubber bands and held close to the wall of the lower vessel it was possible to raise or lower the cover dish to any desired height. For the greater part of the experiment the cover was adjusted to the highest position to give an air space of about 140 cc. over the soil. When lowered the cover permitted a microscopic investigation of the soil surface and of the spaces opening upon it, much the same as with the micro-culture dishes. Although only the lower magnifications (to about 150 × in some cases) could be used it was possible to observe satisfactorily the development of the micro-flora without opening the dish. The space between cover and dish was filled with a strip of cotton wadding.

The micro-culture dishes, used for taking the soil in its original field structure, have a diameter of 27 mm. and a height of 30 mm. They consist of a glass cutting cylinder (for cutting out soil cylinders in an undisturbed condition), lying within a slightly larger but snugly fitting culture dish, and a cover dish which can be raised or lowered by means of a rubber band. The upper plate of the cover dish is of cover glass thinness and optically perfect enough to allow undistorted observations of the soil spaces opening to the surface without necessitating the opening of the dish to the air. This window is fixed to the side walls of the upper dish with heatproof and acid-proof cement. The dishes can be obtained from C. R e i c h e r t, Vienna, or from

Pfaltz & Bauer, New York. The details of the technique for their use will be explained in another place.

Order of experiments. The experiments were run in parallel. One dish of each series was temporarily opened in order to conduct isolations and transfers of organisms to artificial media. The other dish was constantly kept closed to avoid the influence of laboratory contamination. Besides these regular dishes some other dishes had been filled one or two days before for the study of the organization of the experiment and the determination of the quantity of added materials most convenient for microscopic observations. After it was established that the conditions in these dishes were essentially the same as those in the regular ones they were added to the experiment. In most cases the soil in these dishes became consolidated after some time into a more or less compact cylinder. These were removed when the experiment was half complete to perform investigations upon the inside of the soil body. The total number of dishes, including those taken from the preliminary experiment was: Cellulose 4 (1 micro culture dish), Lignin 3, Zein 3 (1 microculture dish). and 6 without additions (4 micro culture dishes).

Soil used. The podzolic soil was a gravely Sassafrass sandy loam bearing no vegetation at the time the samples were taken. The grain sizes of the surface soil according to the international grain grouping scale were: clay ($< 2\ \mu$) 8.0%, silt (2 to 20 μ) 33.5%, fine sand (20 to 200 μ) 44.9%, coarse sand (0.2 to 2 mm.) 13.0%. It contained 2.5% humus on the average, 0.137% total nitrogen, the reaction in suspension was pH 6.1.

Added materials: The cellulose used was divided into white filaments about 20 μ in thickness. It could be observed in the soil as small masses about 500 to 700 μ (Plate I, figs. 4, 5). Prior to application the cellulose was sterilized. Lignin was added in the form of minute splinters about 20 to 700 μ in diameter. This was not sterilized but cultures of pure lignin in sterile tap water gave no growth of organisms. The zein, too, was used in its unsterilized state and appeared as pure white grains about 50 μ to 1 mm. In check cultures some colonies of short rod-like bacteria developed together with one colony of a Penicillium. These organisms were not observed in the soil. The zein itself is white and practically insoluble in water. Later, in the soil, the grains took on a yellowish color. The gum arabic used appeared as small, colorless, crystal clear, particles about 10 to 300 μ in diameter. A check culture without soil gave in one case a single colony of a yellow Aspergillus — not observed later in the soil.

IV. Short description of the progress of the experiment.

The dishes were kept in the laboratory and no water was added during the course of the experiment. All changes in the soil were observed microscopically during a period of 1½ month. Any newly appearing organisms were isolated at once and transferred to artificial media.

Within one day after the beginning of the experiment the cellulose dishes showed a stimulation of microbic activity. The small masses of cellulose showed filaments of mycelium and yellow colonies of a cellulose-decomposing bacterium.

3rd day — The development of mycelium was highest in the zein dishes. These were also distinguished by their strong earthy smell.

4th day — Chalky white fruiting bodies of Cunninghamella appeared in all zein dishes; also fruiting bodies of Hyalopus sp. The development of colonies of Actinomyces were observed both on zein particles and on soil particles infiltrated with soil solution. Sporadic, dense, well formed spirals of actinomyces could be seen. Some newly developed fungus mycelium was observed in the dishes of all series. Particularly favorable growth of mycelium was noted in the cellulose dishes.

5th day — The zein dishes showed luxuriant development of mycelium and fruiting bodies, namely, Cunninghamella and Hyalopus. The colonies of actinomyces still dominated.

7th day — It was observed that species of Actinomyces which attacked zein particles directly consumed them quite rapidly (Plate II, Fig. 13—14).

8th day — All gum arabic dishes showed numerous conidiophores of Penicillia which were absent in dishes of the other series. In the zein dishes fruiting bodies of Gliocladium sp. appeared. This species was the third most abundant fungus there.

After 12 days — The development of fruiting bodies could be seen also in the soil without organic additions, namely conidiophores of Verticillium chlamydosporium Goddard, besides conidiophores of Gliocladium sp. Both forms appeared to a certain extent in the dishes of all series. In the zein dishes the first fruiting bodies of Fusarium could be observed. In the cellulose dishes the development of mycelium exceeded that of all other dishes. However, there was scarcely any development of fruiting bodies up to this time. Of the types of mycelium a golden yellow form was particularly striking. It was identified later as the hyphae of Humicola sp. The major part of the other white mycelium was determined after transferring fragments of hyphae to artificial media and later also by the development of fruiting bodies of Verticillium chlamydosporium in the soil. Nematodes and mites were especially abundant in the cellulose dishes.

20th day — The lignin dishes showed numerous colonies of actinomyces, also colonies growing directly on large lignin particles (Plate II). In one of the lignin dishes (No. 11) conidiophores of Botrytis cineria could be observed.

22nd day — The conidiophores of Hyalopus were the most abundant of all fungi in the zein dishes. Their hyaline, slimy heads began to dry. They became white and irregular in outline, and it was possible to distinguish single conidia in their mass. They were so numerous that all parts of the soil were covered with them.

28th day — The first fruiting bodies were observed in the cellulose dishes, chlamydospores of Humicola sp. At the surface of the soil without additions white, wooly colonies of Actinomyces developed, especially at the borders. The actinomyces in the lignin dishes were still much more abundant than in the dishes without additions.

After the 39th day — Henceforth the dishes showed only little loss of weight, and the soils appeared entirely dried. In the final state fruiting bodies of Acrothecium sp. could be observed on dry plant roots. In the zein dishes the conidiophores of Hyalopus, formerly very numerous, had disappeared entirely. Among the most abundant species were long, compact, dried Penicillium forms of Gliocladium sp.; colonies

of Fusarium sp. which had been developed more rapidly in the last period; and some conidiophores of Cunninghamella with conidia falling off in drying.

The soils of the other series showed more or less the same microbiological composition as before.

V. Special microbiological investigations and analyses of the locations.

A. Soil without additions.

1. Verticillium chlamydosporium Goddard.

Description of the locations. The soil in its original field structure showed a flat, washed, smooth surface in which coarse, almost bare sand grains free of visible colloidal films or crusts of silt were sticking out. Often strong marginal splits caused by the shrinkage of the soil body were formed about the larger sand grains, giving a favorable cite for the development of fruiting bodies. The surface, in addition, contained a number of round lacunae with a diameter of about 300 to 700 μ.

The highest development of mycelium and fruiting bodies, however, was found in the marginal split between the soil body and the side walls of the microculture dish. All of these spaces give better conditions for fungus development than the rather dense, smooth surface.

In spite of the dense surface the inside of the soil body was rich in spaces, especially water tubes with diameters of 200 to 400 μ. The walls of these transversely irregular, winding tubes were dense, shiny, and almost smooth. They were caused, evidently, by the subsiding of the loose soil particles through the action of the flowing water in the tubes. (Their formation can be demonstrated by letting minute drops of water drip into a dry, sandy soil of dense structure through a small pipette.) In these tubes some mycelium of the size and type of Verticillium chlamydosporium was always found, sometimes easily identifiable by their development of sparsely fruiting bodies. The hyphae originated directly from the soil parts infiltrated with soil solution. The reaction of these parts was pH 5.8—6.0. They consisted mainly of sand grains between which silt particles were embedded to give a more or less dense structure. Under higher magnifications it could be seen that the mineral particles were surrounded by a very thin, light yellow colloidal film — somewhat slimy in its moistened state.

In the artificially loosened soil the soil spaces represented mainly the intervals between the small soil clods. These round clods had a diameter of about 0,3 to 5 mm.; the variously shaped, connected spaces between them, about 0.2 to 3 mm. These components were not crumbly, but, examined half way through the experiment, showed a dense structure with smooth, somewhat silvery surfaces, infiltrated with tiny pores. The air conditions throughout the soil had improved at this stage. The soil in micro-culture dish No. 6 (dense field structure) for example, showed 48% solid parts, 20% soil solution, and 32% air by volume; that in dish No. 1 (loosened structure) 37.7% solid parts, 15.8% soil solution. and 49.5% air (see Fig. 2). Yet the structure within the single clods of the loosened soil was more dense than that within the field soil. In the numerous spaces of the loosened soil mycelium and fruiting bodies of Verticillium chlamydosporium were found everywhere. However, in spite of the

much better air conditions there was no increase in the number of species of fungi and no particularly great increase in the development of mycelium as was found in the case of a number of other soils (10). The cause is evidently the relatively bad nutrient condition. A slight amendment of nutrient substances makes the spaces of this soil a perfect location for a great number of fungus species.

In the spaces opening to the surface of the soil a higher development of mycelium and particularly of fruiting bodies were observed, as shown in Plate I, Fig. 1. The species found here were the same as those inside the soil.

Verticillium chlamydosporium seems to be characteristic also of a number of other podzol soils of New Jersey where it was observed during the time of this experiment and later. It was found in a forest podzol south of New Brunswick where it was about the only species growing on soil colloids, while Penicillium-like conidiophores were seen on plant roots and fresh plant residues. Furthermore it was found in different varieties of Penn loams.

Soil forms. Fertile hyphae were always evident across the soil spaces. They were unbranched as well as one or two times dichotomously branched, and when abundant, appeared as a net (Plate I). They showed along their whole length a great number of more or less complete whorls of side branches about 15 μ long, each bearing at their end one single spore — hyaline, oval, 2.6 to 5 μ long and 1.3 to 2 μ in diameter. No chlamydospores were found in the soil.

Culture forms. Cultures were obtained by transferring conidia as well as fragments of mycelium from the colonies to artificial media. The fine, cottony colonies were pure white, later cream; the reverse side yellow. The mycelium was fine, septate, 1.3 to 2 μ in diameter. The conidiophores and whorls were produced on side branches about 16 to 18 μ long. These bore one single spore. The conidia, especially abundant in the beginning, were oval, hyaline and 3.9 to 5.2 μ long and 1.3 to 2 μ in diameter. Besides the conidia a great mass of chlamydospores were formed, particularly in the later stages. These were slightly yellow, irregular, 4 to 6 celled, up to 20 to 30 μ in diameter and appeared on side branches 10 to 20 μ long.

Diagnostical remarks. It may be stated only that the fungus found very probably conforms with the form of Goddard isolated from the soil. The question as to whether or not Verticillium chlamydosporium Goddard can be looked upon as a Verticillium will not be considered in this paper.

2. Gliocladium sp.

Description of the locations. Gliocladium sp. was nearly always found on little plant roots or more or less fresh residues of plants. A little plant, mixed accidentally with the soil was covered by conidiophores of Gliocladium sp., and showed on its white stem minute Acrostalagmous-like conidiophores. On the green, well developed, nitrogen rich leaf there were compact Penicillium-like conidiophores. The Penicillium-like type dominated in the zein dishes, as will be shown later.

Soil forms. The Acrostalagmus-like conidiophores grew directly out of the substrate. The stem had a length of about 50 μ; the small crystal, clear, hyaline, globose Acrostalagmus-like heads had a diameter of 10 to 15 μ.

Culture forms. Cultures were made of the Acrostalagmus type as well as of the Penicillium type which conformed to both.

The colonies were round, white, and the reverse side yellowish. In a later stage they were greasy, mealy, formless, with brownish scabs. The conidiophores were verticilliately branched, the sterigmata cylindrical to slightly flask-shaped, about 18 μ long and 3 μ wide. The conidia were irregularly formed, more or less oval, about 6.5 to 7 μ long and 4 μ wide. They were accumulated generally into long, compact columns of chained conidia, but occurred sporadically as slimy spore balls (larger than in the soil) or in transition forms of both.

3. Actinomyces sp. 5.

Description of the locations. The species was also found in mineral soil parts infiltrated with soil solution — most abundantly and best developed on the surface of the soil, mainly near the rim of the dish.

This zone, representing the part of highest evaporation followed by an accumulation of the remaining inorganic and organic substances from soil solution, showed an increase of the pH of about 0.2.

Soil forms. The colonies were very loose, consisting sometimes only of a number of single filaments radiating out of the soil. The more dense colonies were white and cottony. Spirals could not be observed.

Culture forms. The colonies on sodium asparaginate agar were tender, translucent, almost Coli-like, somewhat bluish or yellowish (also in old and hardened stage). Under the microscope the surface of the gel mass was observed to be interspersed with filaments. There was no layer of aerial mycelium. The mycelium had a diameter of 0.9 μ, the slightly oval spores were about 1 by 1.2 μ.

4. Actinomyces sp. 9.

Description of the locations. The species was found in the same locations as the preceding ones, but was more abundant in the lignin dishes.

Soil forms. The colonies were white, cottony, round, and cushion like. Spirals were not observed.

Culture forms. The species grew very slowly on sodium asparaginate agar. The few colonies obtained were about 2 mm. in diameter, of ochraceous color and with a smooth surface divided in sections somewhat like a turtle shell. The mycelium was delicate and white, 0.9 to 1.0 μ in diameter. The spores were round and about 0.8 μ in diameter. No spirals were observed.

5. Acrothecium sp.

Description of the locations. This fungus was found in two of the microculture dishes containing soil in its dense field structure (Nos. 4 and 6). It was always observed on white, more or less dry residues of plants inside the soil during the last part of the experiment.

Soil forms. Mycelium was rather rare. Most conidiophores were observed growing singly directly out of the substrate (Plate I, 2 and 3). They were quite abundant in some locations. Their color under vertical light was blackish brown and smokey gray-brown. Under transmitted light they were transparent. They consisted of an unbranched stem, septate, about 80 μ long and 3 μ wide, bearing a verticil of 2 to 10 elongated, barrel-shaped conidia, the lower parts of which were somewhat conical, organized to form a

terminal head. These were 4 to 5 celled, about 20 to 25 μ long and 8 to 9.5 μ in diameter.

Culture forms. In spite of repeated transfers no colonies could be obtained.

6. Hyalopus sp.

Fruiting bodies of other species of fungi were observed only sporadically i. e. Hyalopus sp. in No. 6 (micro-culture dish). This was the same form which appeared so abundantly in the zein dishes.

B. Soil with cellulose.

1. Humicola sp.

Description of locations. Although hyphae of Humicola were also found in other locations, their occurrence on the cellulose wads and between the filaments was so dense that they formed there a dense, golden, glittering net (Plate I). Sometimes the cellulose was entirely wrapped up in mycelium. The tiny cellulose masses, infiltrated with soil solution had a pH of 5.4 to 5.6. The individual masses varied in size from 500 to 700 μ in diameter and were distributed at distances of 10 to 20 mm. or greater, from each other. Although Humicola was the most frequent form in all cellulose dishes, it could be seen that it preferred locations on the surface of the soil body, on the parts facing the cover, the sides, and the bottom. Inside of the soil its development was much restrained. It gave the impression of growing only in larger soil spaces.

Soil forms. The relatively strong mycelium was so striking that it could be identified anywhere. Under vertical light it was brilliantly irridescent. The mycelium was highly branched and of a bright yellow color. Development of conidia was not observed (Plate I, 4). The chlamydospores appeared dark green-brown and did not develop until about one month after the beginning of the experiment.

Culture forms. The colonies obtained by transferring single fragments of the golden yellow mycelium on Wöltje agar and soil extract agar were at first gray, round, radiate, and woolly with a blackish gray-green reverse side. Later these became gray, developed dark stains on the upper side and still later, became uniformly blackish gray-green. The bright yellow mycelium was knobby and irregular in form, about 1.3 to 5 μ in diameter. The cell contents were granular. The conidia were very small, round, with a diameter of about 1 μ. They were not very numerous, therefore exact observations of the conidiophores could not be made. Thick-walled chlamydospores, round, and in a few cases oval, 10 to 16 μ in diameter were found. These were filled with granular material and contained drops of oil. Their color was intense yellow, the cell walls were hyaline, 1 μ in diameter. The undivided branches, bearing the chlamydospores, had a length of about 25 μ.

Diagnostical remarks. Although up to now Traaen knew only hyaline hyphae in the case of Hyalopus, this form must be considered as belonging to the Mucedineae on account of its bright yellow mycelium and other characteristics. Thus it fits well in the genus Humicola.

2. Verticillium chlamydosporium Goddard.

Description of the location. Mycelium of Verticillium was also strongly developed in the cellulose dishes. On the surface of the soil it was less abundant than Humicola, however. Inside

the soil the Verticillium was observed to be almost the only fungus present, growing on cellulose, particularly in the smaller soil spaces. Here the development of Humicola was comparatively sparse.

Soil forms. Like Humicola, Verticillium was usually found only in the form of rather luxuriously developed mycelium (Plate I, 5). But in some cases, especially towards the end of the experiment, conidiophores were seen. These generally originated directly upon the cellulose filaments. Sometimes erect conidiophores, containing 3 to 4 whorls of fertile side-branches were observed, but no chlamydospores were found.

Culture forms. The colonies obtained by transferring fragments of mycelium were identical with those obtained from the soil with no organic additions.

3. Gliocladium sp.

This fungus was also present (conidiophores), but in the face the luxuriant development of the other forms it was thrown into the background.

4. Hyalopus sp.

Some conidiophores of this fungus were found seven days after the beginning of the experiment in dish No. 7. It did not occur in the other cellulose dishes.

5. Actinomyces sp. 5.

Actinomyces were observed only sporadically. In one case alone (dish No. 7), a colony of actinomyces was found directly on cellulose filaments. It was identified with Actinomyces sp. 5, found previously in the soil without organic additions.

6. Cellulose-decomposing bacteria.

At the beginning of the experiment on the rather moist cellulose filaments yellowish colonies of a cellulose-decomposing bacterium could be seen. Since none of the dishes were opened at this time (they were investigated microscopically through the glass of the cover), and since the bacteria soon disappeared after the luxurious development of the fungi, no cultures could be made or further investigations performed.

7. Nematodes and soil mites.

The presence of this group was particularly striking in the cellulose dishes. They were observed mainly on fungus hyphae. Nematodes were found in great numbers even during the more dry conditions which occurred 28 days after the beginning of the experiment.

C. Soil with lignin.

1. Actinomyces sp. 8.

Description of locations. The species was isolated from the lignin particle shown in Plate II, 7 and 8. This fragment was about 650 μ long and 200 μ wide. The reaction of the particle infiltrated with soil solution was about pH 5. Some other lignin particles not showing colonies of actinomyces had a pH as low as 4.2. The species seemed to prefer the lignin fragments themselves to the soil in the vicinity. Actinomyces growing directly on the soil were mainly to be found in locations at the surface, near the rim of the dish.

Soil forms. The rather thick, white mycelium was formed into well developed coarse, cottony colonies These were well defined (Plate II, 8). Spirals could not be observed.

Culture forms. The small colonies on sodium asparaginate agar were elevated, button shaped, 2 to 4 mm. in diameter, and extended deep into the medium. The upper surface was chalky white, sometimes wrinkled and ochraceous with chalky white rims. The reverse side was yellowish with whitish margins. Mycelium was strong with a diameter of 1,9 to 2 μ and showed faveolate structure. Sporadic, rather long, cork-screw-like spirals were observed.

2. Actinomyces sp. 9.

Description of locations. This species was found both on mineral soil parts infiltrated with soil solution and on lignin particles. In most of the mineral locations minute lignin splinters were found. Act. sp. 9, as well as similar forms were especially frequent at the surface near the rim of the dish.

Soil forms. The colonies were similar to those found in the soil without added organic materials.

Culture forms. The morphology of this species was about the same as the form previously described.

3. Actinomyces sp. 7.

This species was isolated from dish No. 11 where it was growing on lignin particles as well as on mineral soil particles infiltrated with the soil solution. It was similar in appearance to Actinomyces sp. 8, having a rather thick mycelium, but lacking its alveolate structure. The colonies on sodium-asparaginate agar were dark red-brown to ochraceous brown, with or without a white chalky layer. The surface varied from padded to mesenterical appearance. The mycelium was 1.9 to 2.2 μ thick and could be easily broken off into fragments, generally square, about 2 by 3.3 μ

4. Verticillium chlamydosporium Goddard.

Compared with the growth in the soil without organic additions the development of mycelium and fruiting bodies was somewhat retarded. The appearance was the same.

5. Gliocladium sp.

The occurrence of this species was more or less restricted to minute plant roots and fragments of plant residues in the lignin dishes also. The development was comparatively poor and the total quantity of mycelium less. The fruiting bodies were always of the Acrostalagmus type.

6. Botrytis cinerea Pers.

Description of locations. It cannot be stated whether or not the development of this fungus was favored by the addition of lignin, since it appeared only in dish No. 11. Fruiting bodies and mycelium, though luxuriously developed, were seen only locally in spaces opening to the surface. These spaces were rather large, 0.8 to 2 mm. in diameter, and extended vertically downwards in ravine fashion. The fungus did not grow directly upon the lignin.

Though dish No. 11 was one of those later opened frequently, the first opening was not performed before the appearance of this fungus.

Soil forms. The species was observed in the soil as blackish shrub-like conidiophores with knotty branches bearing bunches of brownish-white conidia. These occurred particularly at the knot-joints of the "twigs" (Plate I, Fig. 6). Conidia were oval, about 6 by 10 μ.

Culture forms. The colonies which extended over the surface were loose and brownish-gray. The conidiophores were unbranched or singly branched, septate, and 10 to 20 μ thick. Their color was dark gray-brown, slightly olive tinted. Towards the top they became lighter. The conidia were arranged on fine points and warts of blunt branches. They were egg-shaped, 9 to 11 by 6 to 7 μ, and were covered with a hyaline, light brown membrane. In a later stage the cultures developed numerous sclerotia about 90 to 180 μ wide and 30 to 110 μ high. These were black on the surface and dirty white on the inside. In some cases they bore newly developed conidiophores.

D. Soil with zein.

1. Actinomyces sp. 10 (chromogenous type).

Description of the locations. This species was among the first developing organisms. They were distinguished by a strong earthy smell which was in evidence by the second day of the experiment in all zein dishes. It cannot be stated whether or not the species grew on the mineral soil parts. In any case, it was the most abundant species growing on zein particles. These were surrounded in the soil by a film of water which had a reaction of pH 6.0. The particles, originally pure white, turned definitely yellow a short time after the actinomyces had grown on them. Simultaneously they lost their opaqueness and became clear, glassy, and transparent.

Soil forms. Strongly developed, cushiony or lawn-like, cottony, white colonies were first formed on the zein particles (Plate II, Fig. 10). The substrate beneath became an intense yellow. Later the colonies spread over the whole surface and finally the zein particles were entirely surrounded by a dense mantle of mycelium to give the appearance of chalky, white, cottony balls (Plate II, Fig. 11). Spirals were not observed on this species in the soil.

Culture forms. The colonies on sodium asparaginate agar were round or irregular in shape with chalky, light gray centers surrounded by light brown coronas. The substrate was colored dark brown and the cultures had a strong earthy smell. Mycelium was 0.9 to 1.5 μ thick. The aerial spores were either round or short ellipses, about 1.2 μ in diameter. Sporadic, more or less open spirals were observed.

2. Actinomyces sp. 1.

Description of locations. The species was found both directly upon zein particles and upon mineral soil parts infiltrated with soil solution (which may be also mixed with minute zein particles). It could be seen that the organism consumed the zein rather rapidly. This could be observed particularly well where larger zein particles had been entirely embedded in finely dispersed soil substances. After a short time all visible parts of the substrate were covered with mycelium, the zein particle became appre-

ciably smaller, and a wide space could be observed between it and the wall of the cavity thus formed (Plate III, Fig. 13). In a later state the whole particle was absorbed and only the cavity bearing the form of the initial zein mass was left (Plate III, Fig. 14). The wall of this cavity was covered with a layer of pink mycelium. Colonies of Actinomyces sp. 1, though entirely absent in the other dishes, were exceedingly numerous in the zein dishes. This species, together with Actinomyces sp. 10 were the most abundant. Both species were the only forms which could be observed attacking the zein particles directly. Although the addition of zein brought about luxurious development of a number of other fungi, none of these could be found growing immediately upon the zein particles, but on mineral soil parts infiltrated with soil solution, as though their growth was due to the presence of soluble products originating from the added organic material.

Soil forms. The colonies appeared pinkish to rose-wood in color, fine, velvety, low and dense. On the mineral soil components the colonies were round, somewhat cushion-like. The mycelium was 1 to 1.2 μ in diameter. The spores were short ovals, about 1 μ in diameter. Spirals were not observed.

Culture forms. The colonies on sodium-asparaginate agar were round, sepia brown to dark sepia, up to 3 mm. in diameter and were for the most part surrounded by a brownish white corona about 1 cm. wide, or a narrow, intensely ochraceous-brown border.

The reverse side was dark sepia. The mycelium and spores were about 1 μ in diameter. Spirals were not observed.

3. Actinomyces flavus (?) Krainsky, emend. Waksman and Curtis.

Description of locations. The species was growing on mineral soil parts. Since it was not found in the other experimental dishes and was found repeatedly in the zein dishes, the addition of zein undoubtedly influenced its development.

Soils forms. The species appeared in the form of white, cottony colonies forming rather dense cushions at their bases.

Culture forms. The colonies on sodium asparaginate agar were irregularly lobed, brown in the middle, with wide, sulfur-yellow, somewhat brownish borders. In the center it was gray-white, with a chalky layer of aerial mycelium. The reverse side was intense sepia in the center and brownish yellow at the borders. The colonies were about 2 to 6 mm. in diameter, and the substrate became brownish yellow in color. The diameter of the mycelium was 0.8 to 1 μ, the spores were oval, and from 0.8 to 1 μ in diameter. Numerous corkscrew-like spirals were demonstrated in the culture.

Diagnostical remarks. This species differed from that described by Waksman (16) in that it typically formed numerous spirals on artificial media. The mycelium and spores also seemed to be smaller in size than described by Krainsky (8).

4. Cunninghamella sp.

Description of locations. Mycelium and fruiting bodies were in no case observed directly on zein particles but always grew on mineral soil components infiltrated with soil solution, mostly rather distant from the zein additions. The species was common to all zein dishes but did not

appear in any others. Its location was limited to larger soil spaces 600 μ or more in diameter. In most cases these spaces were several millimeters in diameter.

Soil forms. The appearance of the species in the soil by vertical light was very striking because of the comparatively large, chalky white fruiting bodies with strongly reflecting stems (Plate II, Fig. 12). The conidiophores were non-septate, erect, mostly verticillately branched. Each branch bore another whorl of branches with 7 to 20 conidial heads. The conidia originated upon inflated heads on the tips of the terminal branches. The highest conidial heads of the colonies were in some cases larger than the others. Often tender, rhizoid-like hyphae originated at the first whorl of branches. The conidia were oval, about 16 μ long and 12 μ wide; they fell off comparatively early. Their walls were covered with long spines.

Culture forms. Colonies spread completely over the surface of the medium and grew upwards to a height of 1 cm. In their early stages they were white, later they became ash to brownish. The mycelium was hyaline and had a diameter of 10 μ. It was partly septate mostly non-septate, and in some cases showed granulation. The inflated head of the conidiophores was globose, somewhat drawn downwards, and varied in diameter from 13 to 32 μ. The conidiophores were dichotomously branched with a larger terminal head in the center. The conidia were oval, 11 to 19 μ or longer but averaging 14 μ in length. These were spined, though apparently not so coarsely as were the soil forms. The contents were granular and the conidia became brownish with age. The chlamydospores grew singly or in groups directly upon the mycelium. They were brown and spiny.

Diagnostical remarks. This species seems to be quite similar to Cunninghamella elegans Lendner, but differs from it chiefly in that the spores are not like those drawn in Lendner's book (13).

5. Hyalopus sp.

Description of locations. Hyalopus was found only on mineral soil parts infiltrated with soil solution. Its development was strongest in the zein dishes where at one period it was the most abundant species. It grew rather slowly and seemed to be critical of the water contents of the substrate, the highest development occurring around the 22nd day of the experiment, and disappearing entirely in later stages when the soil became drier.

Soil forms. The mycelium was fragile and scanty and almost invisible except when it was brought into relief stretched across the unilluminated soil cavities. The conidiophores were unbranched and awl shaped, up to 300 μ in length, hyaline or smoky, and bore thickened stems at their bases. The heads were about 14 μ in diameter (Plate III, Fig. 16), highly refractile, and slimy. Conidia were small and round. Contrary to most Hyalopus forms in the soil which are very delicate and easily destroyed by the processes of isolation, this species was rather resistant. The lower part of the conidiophore was especially tough, almost leather like, and rather difficult to detach from its location.

Culture forms. In spite of repeated transfers to all of the prepared media no cultures were obtained.

6. Gliocladium sp.

Description of locations. In order of predominance it was possible to establish three more or less distinct phases of development and activity of organisms: an actinomyces phase, from about the 1st till the 12th day; a Hyalopus phase, from about the 12th till the 26th day; and a Gliocladium phase, from the 26th day till the end of the experiment.

Gliocladium sp. which in this case was not confined to plant roots and residues, developed abundantly in the last stage of the experiment. While favored very strongly by zein additions, it did not grow directly upon the zein particles. However, with Gliocladium roseum, it grew relatively close to the zein masses. In the last period of the experiment, when it was the dominant form in these dishes it grew especially close to the added zein particles. The following picture could generally be seen: in the center, a more or less decayed zein particle; about this a round, empty space; and finally, a luxurious development of Penicillium-like conidiophores, frequently in the form of a dense, regular ring. In other cases, as in Plate III, 15, the ring form was only partially shown. The empty intervening space due to antagonism might be 80 to 100 μ across.

Soil forms. The Acrostalagmus-like fruiting bodies, observed most frequently in the soil without additions, were seen here only sporadically, while the Penicillium-type with chains of conidia joined in cream colored, compact masses occurred generally.

Often the conidial chains were found in long, extended cylinders of considerable length, with plume-like, curled upper ends. Whereas the conidiophores in the soil without added materials grew more or less singly, in the zein dishes they were always produced in colony-like formations.

Culture forms. Until the transfer on artificial media had been performed the identity of the fungus found in the zein dishes with the Gliocladium sp. previously isolated from the soil without additions could not be established.

7. Gliocladium roseum (Link) Thom.

Description of locations. This species was found in but one of the zein dishes (Micro 5) growing, as in the case of the preceding species, in the immediate vicinity of the zein particles.

Soil forms. Mycelium and conidiophores appeared more or less in colonies around zein particles. The conidiophores were pure white and Penicillium-like.

Culture forms. The colonies on Wöltje agar were white, floccose; later pink to flamingo colored. The conidiophores were verticillately branched and the sterigmata, flask-shaped, about 14 μ long and 4 μ wide. The conidia were hyaline, irregularly elliptical, and slightly apiculate; about 5 to 6 μ long and 3 to 4 μ wide, and bound into compact masses by means of slime.

8. Fusarium sp.

Description of locations. The fungus was not found in any case upon the zein particles nor in their immediate vicinity. However, it was observed in the zein dishes only. It was observed mainly on the surface of the soil, although abundant conidia and some conidiophores were

found on the bottom of the prepared and stained culture dish. Here the conidia of Fusarium were more common than those of other fungi.

Soil forms. The species occurred only sporadically at the beginning of the experiment but developed rather strongly towards the end. Besides Gliocladium sp. it represented the next abundant form, though representing a much smaller mass than Gliocladium. The conidia, small, sickle or spindle-shaped, highly refractile, originated either in star-like sprays or formed spindle-shaped heads of whorls on erect, unbranched conidiophores (Plate III, Fig. 17). They also occurred singly on short, unbranched or dichotomously divided side branches. Mycelium and fruiting bodies occurred singly as well as in more or less well developed colonies.

Culture forms. The colonies on Wöltje agar were pure white with a cottony texture. On some media, as on potato agar (temporarily used) they were yellowish. Conidiophores originated on racemous side branches of hyphae about 5 μ thick, septate, hyaline, and in some cases yellowish. Side twigs were 30 to 80 μ long, either unbranched or dichotomously branching. The conidia formed heads on the tips of these side branches, varying widely in shape. As in the soil, the sickle-shaped conidia were cemented together with slime to form spindle-like heads about 22 μ long and 11 μ wide. In addition cylindrical conidia about 12 μ long and 3 μ wide were observed. These originated singly, doubly, or in larger groupings in the form of a Cephalosporium. Sometimes large amount of slime gave them Hyalopus characteristics. The normal, fully developed conidia were sickle shaped and three to four celled, about 33 μ long and 5 μ wide. The chlamydospores were globose, rough, toothed, and superficially divided into fields. On the average their diameters were about 12 μ.

9. Penicillium lilacinum Thom.

Description of locations. This species was found only in one of the zein dishes (No. 15) where it grew on tiny plant roots (Plate III, Fig. 18).

Soil forms. The fruiting bodies were pink under vertical light. They were verticillately branched and about 200 μ long.

Culture forms. On Wöltje agar the colonies were white in the early stages of growth. Later they became pale violet. The reverse side was white to yellowish. Conidiophores were verticillately branched and bore dense verticils of flask-shaped sterigmata, up to 11 μ long and 4 μ wide. The conidia were round or elliptical, about 2.6 μ or 2 by 2.5 μ in diameter, and pale lilac in color.

10. Verticillium chlamydosporium Goddard.

This fungus was present also in the zein dishes, but seemed to disappear with the more luxuriant development of other species. Its growth did not seem to be essentially favored in the zein dishes.

E. Soil with gum arabic.

1. Penicillium sp. 1.

Description of the locations. A strikingly strong development of Penicillia followed the addition of gum arabic. Two principal species were observed. Penicillium sp. 1 preferred plant roots and plant resi-

dues as substrates which were covered with its conidiophores (Plate III, Fig. 19) The rootlets and residues, however, were infiltrated with gum arabic solution, demonstrated by the characteristic lustre and brownish coloration. One small plant, consisting of a partly decayed stem and leaf part bore especially strong developments of fruiting bodies of Penicillium sp. 1 upon the green part of the leaf.

Soil forms. The conidiophores differed from Penicillium sp. 2 in their size and relatively grosser structure. They were erect, 100 μ or more long, and originated directly from the substrate.

Culture forms. The colonies on Wöltje agar were green gray and upon the reverse side, dark green gray to dark brown. The mycelium was hyaline, highly septate, and 5 μ in diameter. The conidiophores were for the greater part about 120 μ long, dichotomous, and terminally verticillately branched. But short stout conidiophores about 10 to 15 μ long, both verticillately branched and unbranched were also observed. The sterigmata, very numerous and densely crowded, originated at the tips of the branches. These were slightly flask-shaped, about 10 μ long and 3.5 μ wide. The conidia were round to oval, and had an average diameter of 3.2 μ.

2. Penicillium sp. 2.

Description of location. The species was found on mineral soil parts infiltrated with dissolved gum arabic and on undissolved residues of gum arabic particles. A particularly good growth was observed on the marginal parts of the soil surface where evaporation was most rapid. Here the concentration of gum arabic was highest, due to the ascent of soil solution.

A large part of the gum arabic added to the soil was dissolved. Undissolved yellow residues of larger particles could be seen only rarely. These grains represented favorable locations for the development of Penicillia.

The dissolved gum arabic gave a darker color and a slight lustre to the mineral soil parts that had become infiltrated with it. The formation of a thin, brown crust was observed on the surface of the soil, particularly on the marginal parts and in the region of strongest growth of Penicillia.

The structure of the single soil crumbs was generally relatively dense in these dishes — the reaction of these infiltrated crumbs upon which Penicillia grew was about pH 4.6. Plate III, Fig. 20 shows a residual gum arabic particle surrounded by clay and silt particles from which fertile hyphae of Penicillium sp. 2 are originating.

Soil forms. Residues of gum arabic granules and soil particles infiltrated with dissolved gum arabic were covered with fine filaments from which short, fragile conidiophores originated. These attained a length of 50 μ and bore a whorl of sterigmata on each tip.

Culture forms. The colonies on Wöltje agar were green-gray, the reverse side was yellowish, later brownish. The diameter of the mycelium was 2 μ. The conidiophores were septate, unbranched, about 40 to 50 μ long, and bore at their tips single verticils of cylindrical sterigmata 11 μ long and 2.6 μ wide. The conidia were globular and 3.3 μ in diameter.

3. Verticillium chlamydosporium Goddard.

The species was considerably favored by the addition of gum arabic, so that its growth was at least quantitatively as strong as that of the Penicillia. While the Penicillia were limited to the surface of the soil and to

well aerated locations, Verticillium was found in abundance within the soil as well. Here it represented, for the most part, the only species producing fruiting bodies.

4. Gliocladium sp.

Conidiophores of this fungus were found but rather seldom.

5. Actinomyces.

The growth of this group of organisms was much restrained. Some colonies appeared only sporadically during the last period of the experiment.

VI. Results and Conclusions.

A. General results. 1. The direct microtechnical method permits the determination of the fungi and actinomyces actually growing in the soil. In combination with the plate method it will be possible to eliminate all species only present in the form of spores.

2. From the determination of the only active species in the soil a considerable reduction of the number of species is obtained as compared with the number brought out by the plate method.

3. The method permits not only of an easy isolation and cultivation of the species observed but also of investigations upon their distribution, their micro-locations and microscopical substrates, their living conditions, their kind and rate of activity and morphology in the soil.

4. Also by direct investigation it could be found that every soil responds more or less definitely to the addition of specific organic substances. The relatively good conformance of repeated experiments confirms this. The microtechnical method of undisturbed soil in combination with the addition method will be able to give information als oconcerning the role and efficiency of different organisms in different soils.

5. A large number of organisms live in the soil solution, utilizing the dissolved and dispersed organic compounds therein. The addition of organic compounds to the natural soil solution in one form or another brings about great changes in the flora growing upon mineral substrates infiltrated with the altered solution.

6. The number, species, and intensity of growth on the surface of the soil differs from that inside the soil.

7. No essential differences in results could be observed between dishes frequently opened to the laboratory air and those protected against laboratory contamination.

B. Species common to all dishes of one series. Those species that could be observed uniformly in all dishes of any one series of the experiment represented at the same time the most abundant forms in that series. These are given in order of abundance and importance in the various series in the following list. The figure in parenthesis indicates the number of dishes examined in that series.

Soil with zein (3 ×): Actinomyces sp. 10 (chromogenes type), Act. sp. 1, Act. flavus (?), Gliocladium sp., Hyalopus sp., Fusarium sp., Cunninghamella sp., Verticillium chlamydosporium.

Soil with cellulose (4 ×): Humicola sp., Verticillium chlamydosporium, Gliocladium sp., cellulose-decomposing bacteria, nematodes, and soil mites.

S o i l w i t h g u m a r a b i c (2 ×): Penicillium sp. 2, Penicillium sp. 1, Verticillium chlamydosporium, Gliocladium sp.

S o i l w i t h l i g n i n (3 ×): Actinomyces sp. 8, Act. sp. 9, Verticillium chlamydosporium, Gliocladium sp.

S o i l w i t h o u t a d d i t i o n s (4 ×): Verticillium chlamydosporium, diverse species of actinomyces (among them Actinomyces sp. 5), Gliocladium sp.

C. S p e c i e s f o u n d s p o r a d i c a l l y. Organisms that were not found uniformly in all experimental dishes of one series showed only local development throughout.

S o i l w i t h o u t a d d i t i o n s: Acrothecium sp. (in micro 3), Hyalopus (in micro 6).

S o i l w i t h l i g n i n: Botrytis cineria (in No. 5).

S o i l w i t h c e l l u l o s e: Hyalopus sp. (in No. 7), Actinomyces sp. 5 (in No. 7).

S o i l w i t h z e i n: Gliocladium roseum (in micro 5), Penicillium lilacinum (in No. 7).

D. S p e c i e s l i s t e d a c c o r d i n g t o l o c a t i o n s.

1. O n m i n e r a l s o i l p a r t s infiltrated with s o i l s o l u t i o n: Verticillium chlamydosporium, diverse species of actinomyces, among them Act. sp. 5 (in all dishes); Actinomyces flavus (?), Cunninghamella sp., Hyalopus sp., Gliocladium sp., Gliocladium roseum, Fusarium sp. (only in zein dishes); Penicillium sp. 2 (only in gum arabic dishes).

2. O n p l a n t r o o t s and p l a n t r e s i d u e s: Gliocladium sp., Acrothecium sp.; Penicillium lilacinum (in micro 5 zein dish only); Penicillium sp. 1 (in gum arabic dishes only).

3. O n c e l l u l o s e f i l a m e n t s: Humicola sp., Verticillium chlamydosporium, cellulose-decomposing bacteria.

4. O n l i g n i n p a r t i c l e s: Actinomyces sp. 8 (Act. sp. 9, Act. sp. 7).

5. O n z e i n p a r t i c l e s: Actinomyces sp. 10 (chromogenes type), Actinomyces sp. 1.

6. O n g u m a r a b i c p a r t i c l e s: Penicillium sp. 2.

7. In s p a c e s o v e r 600 μ: Conidiophores of Cunninghamella sp.

E. M i c r o - r e a c t i o n s o f d i f f e r e n t l o c a t i o n s:

Mineral soil parts infiltrated with soil solution: pH 5.8—6.2.

Capillary water between cellulose filaments: pH 5.4—5.6.

Water films on lignin particles: pH 4.2—5.0.

Water films on zein particles: pH 6.0.

Water films on gum arabic residues: pH 4.6.

F. D i f f e r e n c e b e t w e e n s u r f a c e a n d i n t e r i o r o f t h e s o i l. For fungi and certain actinomyces the soil surface represents a favorable location. This is not so true of the higher, more exposed parts of the microscopic relief as of the soil spaces opening to the surface. On these parts near the surface of the soil there is not only a generally stronger development of mycelium and fruiting bodies, but often also species that are observably absent or rare within the interior of the soil.

Thus, in the c e l l u l o s e d i s h e s on the surface Humicola sp. was found primarily, while V e r t i c i l l i u m c h l a m y d o s p o r i u m appeared relatively scarce. In the interior of the soil Verticillium was observed to be most abundant, while Humicola was almost entirely absent.

Better aeration at the surface of the soil favors the development of fungi and actinomyces and the greater space there permits the production of fruiting bodies. Here there is also a higher concentration of nutritive substances brought about by the evaporation of the water from the ascending soil solution. This was particularly striking in the case of the gum arabic dishes where the strongest growth of Penicillium took place in locations where gum arabic was precipitated in greatest quantities from the soil solution.

The larger spaces inside the soil favor the growth and formation of fruiting bodies of fungi, this development was especially noticeable in cavities of several millimeters or more. These locations represented better moisture conditions than that existing at the soil surface and the variety and extent of the fungus flora often there exceeds even that of the surface (See ref. 10, p. 521).

G. Conformity of samples from different points of the field. The samples cut out of the natural field structure from different parts of the field with microculture dishes indicate that the most abundant autochtonous organisms are dispersed in the soil rather uniformly over relatively large distances.

H. General conclusions. (1) If we use S. Winogradsky's term the species of organisms found by direct investigation of the soil without added organic materials represent the autochtonous flora of this particular soil (19). This is understood to comprise the species growing on all parts of the natural soil, including all of its characteristic plant and animal residues.

(2) In addition to the autochtonous flora actually capable of developing in the natural soil, a large and more numerous latent flora can be distinguished. This is usually present in the form of undeveloped spores. The addition of specific organic material activates a part of this flora which is termed by Winogradsky as the zymogenous flora.

The change brought about by the addition will vary with the chemical nature of the added materials and with the living conditions in the soil spaces. This use of additions corresponds to the treatment of cultivated soil with different organic and inorganic fertilizers or other modifying materials.

(3) Since the larger part of all organisms found in the soil free of added organic materials and in the treated soil were able to grow on artificial media, it may be assumed that they would have been determined by the plate method also.

(4) Since repeated attempts at transferring some species to artificial media were not successful or yielded cultures only with difficulty, it may be anticipated that these would not have been found at all by the plate method, or that their real role and distribution in the soil would not be recognized (compare this paper V., D 5, Hyalopus sp.; see also ref. 10).

(5) Furthermore it may be taken for granted that not all microorganisms capable of developing upon the plate will be able to develop in the soil even if suitable nutrient conditions prevailed. This can be concluded from the fact that under about the same food conditions more pretentious species develop on the soil surface which are absent within the interior of the soil because of other unfavourable living conditions (lack of space, bad aeration etc.). They are replaced within the interior of the soil by more adaptable forms (see this paper V., B, E and VI., F).

(6) The direct microscopic investigation shows that there are considerable morphological differences between the soil and the culture forms of many organisms (see also ref. 10). It is likely that wide differences occur also in their physiological efficiency.

(7) The preceding observations (3—5) indicate that the totality of the organisms obtained by the plate method represent a flora comprising: 1. A part of the autochtonous flora, and 2. the greatest part of all organisms able to develop to zymogenous species, and 3. of species which, although having found their way into the soil in the form of spores are either not able to develop at all or if so, only on the soil surface. Since the plate method provides a kind of summary statement of a large portion of all soil organisms in one single convenient determination, it is likely to remain an indispensable aid to soil microbiology.

VII. Discussion.

From the investigations of this paper it can be concluded that the direct methods will not be able to supersede the plate and cultural methods, but that they represent an accomplishment to the former methods which cannot be dispensed with. The future of soil investigation will require a combined application of all methods.

Because of the limited time and because of the circumstance that other works were performed at the same time some investigations of this paper could not be brought to an end. For the same reason a demonstration of the method applying to the investigation of bacteria could not be carried out. This will be achieved in a later publication. The actinomyces have been characterized only morphologically. Since physiological investigations are indispensable for their determination no account was taken for their denomination.

From experience it was found advisable to work with a limited number of series, but with a greater number of samples to each series, in each experiment. If more extensive experiments are necessary it is advantageous to work with small groups of series one after another rather than attempting to organize them into a single experiment. Naturally, the more detailed the observations from a microtechnical standpoint, the more valuable the results of the investigation become.

As to the laboratory organisms it was already observed in former investigations that they seem to have little influence upon the flora of the experimental dishes, even when these were opened frequently (ref. 10). The soil itself bears a great number of undeveloped spores of various types, but few are able to develop there. Every soil seems to determine its own peculiar flora. The chances of carrying contaminating air forms to the added organic material in the soil are small. These materials were finely divided, from a few microns to 1 mm., and were added in very limited quantities so that the individual particles were relatively widely separated — 10 to 20 mm. from each other. The possibility of contamination by this means, then, is limited to the chance that one germ may drop directly upon one small particle. If such contamination occured it would involve only local developments.

VIII. Acknowledgment.

The investigations of this paper were performed in the soil microbiology laboratory of Dr. S. A. Waksman. W. Kubiena's part of the work

was subsidized by the Cook-Vorhees Research Foundation (see also ref. 12) and C. Renn's assistance was made possible by appropriations from the experiment station's funds. W. Kubiena wishes to thank Dean Dr. J. G. Lipman and Dr. S. A. Waksman for their support and the opportunity to carry on one year's work at the New Jersey Agricultural Experiment Station. The authors are much indebted to Dr. S. A. Waksman for his kind advice in the planning and execution of the investigation.

IX. Deutsche Zusammenfassung.

1. Vorangehende Arbeit enthält Untersuchungen über den Einfluß des Zusatzes verschiedener organischer Verbindungen (Zellulose, Lignin, Zein und Gummi arabicum) zu einem podsoligen Boden der Versuchsstation des Staates New Jersey in New Brunswick, N. J., U. S. A. auf dessen Mikroflora.

2. Die Untersuchungen erfolgten durchweg mit Hilfe „mikropedologischer" Methoden, worunter „Methoden der direkten mikrotechnischen Untersuchung unzerstörter Böden" verstanden werden. Sie wurden durchgeführt mit dem Bodenmikroskop von W. Kubiena (C. Reichert-Wien). Für die Hohlraum-Aufnahmen wurde die Reichertsche Aufsatzkamera nach Czerny verwendet.

3. Durch direkte mikrotechnische Untersuchung ist eine sichere Bestimmung der im Boden tatsächlich zur Entwicklung gelangenden Pilze und Aktinomyzeten möglich, wodurch in Verbindung mit der Plattenmethode auch eine Bestimmung der großen Zahl der nur in Form von Sporen im Boden vorhandenen Arten durchführbar gemacht wird.

4. Auf mikrotechnischem Wege ist nicht nur eine leichte Isolierung und Kultivierung aller beobachteten Arten möglich, sondern auch eingehende Untersuchungen bezüglich ihres Auftretens, ihrer Rolle und Formbildung im Boden, der Eigenschaften und Lebensbedingungen ihrer Mikrostandorte und mikroskopischen Substrate.

5. Da der Boden in künstlich gelockertem Zustande und mit mäßigem Wassergehalte verwendet wurde, war eine starke Begünstigung der Pilze und Aktinomyzeten zu beobachten. Eine zusammenfassende Liste aller gefundenen Arten ist nach Versuchsserien geordnet in Abschnitt VI. B und C, auf Mikrostandorte aufgeteilt in Abschnitt VI. D wiedergegeben. Abschnitt VI. E gibt eine Liste der Reaktionen der verschiedenen mikroskopischen Standorte, deren Werte von ph 4,2—6,2 schwankten.

6. Der Boden antwortete auf die Beimengung der Zusätze in allen Fällen in deutlicher und charakteristischer Weise, wobei die Übereinstimmung der Ergebnisse innerhalb gleicher Versuchsserien im allgemeinen eine sehr gute war. Zwischen den Standorten an der Bodenoberfläche und solchen im Innern des Bodens zeigten sich charakteristische Unterschiede in der Myzelentwicklung und Fruchtkörperbildung, mehrfach auch im Auftreten verschiedener Organismenarten. Während an der Bodenoberfläche anspruchsvollere Arten gediehen, beschränkte sich die Flora im Bodeninnern auf jene Formen, die einer weitgehenden Anpassung an die dort herrschenden Standortsbedingungen fähig waren. Durch Parallelversuche konnte festgestellt werden, daß der Einfluß der „Laboratoriumskeime" auf die Versuchsergebnisse bei den häufig geöffneten Versuchsschalen ein geringer war.

7. Aus den in vorliegender Arbeit gemachten Untersuchungen ergibt sich, daß die Gesamtheit der mit der Plattenmethode aus dem Boden erhaltenen Organismenarten sich aus folgenden Teilgruppen zusammensetzt: 1. Aus einem Teil der autochthonen Flora (bei der die Gefahr eines Zurückgedrängtwerdens oder Nichterfassens langsamwüchsiger oder schwerkultivierbarer Formen am größten ist); 2. aus einem Großteile der zymogenen Flora — der durch organische Zusätze aktivierten bzw. aktivierbaren Organismenarten (wobei das Ergebnis weitgehend von den verwendeten künstlichen Nährböden abhängt); 3. aus einer Anzahl Organismenarten, die wohl in Form von Sporen in den Boden hineingelangten, in diesem jedoch auch im Falle von organischen Zusätzen zufolge anderer ungünstiger Bedingungen (Raummangel, Luftmangel usw.) nicht oder nur an der Bodenoberfläche entwicklungsfähig sind.

8. Da die Plattenmethode imstande ist, einen Großteil aller im Boden (entwickelt und unentwickelt) vorhandenen Organismenarten in einem einzigen bequemen Arbeitsgange zu bestimmen, wird sie stets ein unentbehrliches Hilfsmittel im Dienste der mikrobiologischen Bodenuntersuchung bleiben. Die direkten Methoden treten ihr indes als ein heute bereits unerläßliches Ergänzungsverfahren zur Seite.

References.

1. Barthel, Chr., and Bengtson, N., Meddelande No. 320 fr. Centralanstalt f. försöksväsendet på jordbruksområdet. Bakt. Avdeln No. 45. 8°. 1927. p. 13. — 2. Conn, H. J., N. Y. Agr. Exp. Sta. Techn. Bull. Vol. 52. 1917. — 3. Conn, H. J., N. Y. Agr. Exp. Sta. Techn. Bull. Vol. 59. 1917. — 4. Daszewska, W., Bull. Soc. Bot. Geneve. Ser. 8. Fasc. 8. 1913. p. 255—316. — 5. Engberding, D., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 23. 1909. S. 569—642. — 6. Hiltner, and Störmer, K., Arb. d. biol. Abt. Land- u. Forstwirtsch. k. Gesundheitsamt. Bd. 3. 1903. p. 445—545. — 7. Jensen, H. L., Journ. Agric. Sci. Vol. 20. 1930. p. 390—398. — 8. Krainsky, A., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 41. 1914. S. 639. — 9. Kubiena, W., Biologia Generalis. Bd. 8. 1932. S. 513—546. — 10. Kubiena, W., Arch. f. Mikrobiol. Bd. 3, 4. 1932. S. 507—542. — 11. Kubiena, W., Soil Research. Vol. 3, 2. 1932. T. 91—102. — 12. Kubiena, W., Ztschr. f. Pfl.-Ern., Düng. u. Bodenk. Bd. A. 31. 1933. S. 255—278. — 13. Lendner, A., Les Mucorinées de la Suisse. Berne 1908. — 14. Lemmermann, O., and Fresenius, L., Methoden f. d. Untersuchung d. Bodens. II. Teil. Berlin 1934. S. 117—121. — 15. Starkey, R. L., Soil Sci. Vol. 17. 1924. p. 293—314. — 16. Waksman, S. A., Soil Sci. Vol. 8. 1919. p. 71. — 17. Waksman, S. A., and Starkey, R. L., Soil Sci. Vol. 17. 1924. p. 373—378. — 18. Waksman, S. A., Mezögazdasági Kutatások, Sigmond-Number. Bd. 6. 1933. p. 419—431. — 19. Winogradsky, S., Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 39. 1925. p. 299—355. — 20. Winogradsky, S., Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 40. 1926. p. 455—521.

Explanation of Illustrations.

Plate I.

Fig. 1. Verticillium chlamydosporium. Loosened soil without additions.

Fig. 2. Acrothecium sp. on plant root. Soil in dense field structure without additions (240 ×).

Fig. 3. Acrothecium sp. seen under transmitted light (400 ×).

Fig. 4. Cellulose pellet with mycelium of Humicola, sp.

Fig. 5. Cellulose pellet with mycelium of Verticillium chlamydosporium.

Fig. 6. Botrytis cinerea in soil with lignin (35 ×).

Plate II.

Fig. 7. Soil space containing mycelium of Verticillium chlamydoporium and a lignin particle bearing two colonies of Actinomyces sp. 8 (35 ×).

Fig. 8. The lignin particle in Fig. 9 magnified 108 times.

Fig. 9. The bottom of the micro-culture dish prepared according to the Rossi-Cholodny method, showing for the most part Actinomyces of the Actinomyces sp. 10 (chromogenes) and Actinomyces sp. 1 types. In the lower right is a spore of Cunninghamella sp..

Fig. 10. Zein particle with two colonies of Actinomyces sp. 10.

Fig. 11. Zein particle entirely encased in mycelium of Actinomyces sp. 10.

Fig. 12. Cunninghamella sp. Soil with zein (35×).

Plate III.

Fig. 13. Zein particle encased and half digested by Actinomyces sp. 1.

Fig. 14. Zein particle almost entirely digested by Actinomyces sp. 1, leaving a round empty space.

Fig. 15. Decayed zein particle surrounded bei Gliocladium sp.

Fig. 16. Hyalopus sp. Soil with zein.

Fig. 17. Bottom of the experimental dish with conidiophore of Fusarium sp. and spindle shaped conidial head. Soil with zein.

Fig. 18. Penicillium lilacinum Thom growing on plant rootlets. Soil with zein.

Fig. 19. Plant rootlet bearing conidiophores of Penicillium sp. 1. Soil with gum arabic.

Fig. 20. Residue of a gum arabic particle with mycelium and Conidiophores of Penicillium sp. 2.

Referate.

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virusuntersuchungen.

McKinney, R. A., The variant and filterable forms of certain green-producing streptococci. (Journ. of Bact. Vol. 27. 1934. p. 373—401.)

Die zu den Untersuchungen verwendeten Stämme stammten aus der Mund-Rachenhöhle erkrankter Patienten. Die Stämme wurden auf Blut-Agar vorgezüchtet. Bei Fortzüchtung der Organismen auf optimalem Nährboden trat keine Spaltung auf. Dagegen konnten bei Fortzüchtung unter ungünstigen Bedingungen leicht Variationsformen erhalten werden. Aus Kulturen, die unter ungünstigen Bedingungen gealtert waren bzw. die auf Nährboden anderer physikalischer oder chemischer Zusammensetzung fortgezüchtet wurden, konnten 3 verschiedene Varianten (nitritbildende Diplokokken, diphtheroide Stäbchen und spindelförmige Stäbchen) erhalten werden. Die diphtheroiden Stäbchen ließen sich durch Züchtung auf Loeffler-Serum und Glukose-Kalbfleisch-Lösung wieder in den Ausgangsformen ähnliche Streptokokken verwandeln. In ähnlicher Weise gelang es auch, die Diplokokkenformen nach Passage über Blut-, Serum- und Ascites-Nährböden wieder in die Streptokokkenformen zu überführen. Diese Ergebnisse konnten mit Hilfe von Einzell-Kulturen bestätigt werden. In Kulturen, die Diplokokken enthielten und Granula-Bildung zeigten, konnten lebensfähige, filtrierbare Formen nachgewiesen werden. Diese wuchsen in erster Generation sehr langsam ohne Trübung der Flüssigkeit. Ausstriche ergaben Diplokokken ungleicher Größe, in späteren Generationen wuchsen Diplokokken abgeplatteter Form, die gramnegativ waren. Richter (Kiel).

Edwards, P. R., The differentiation of hemolytic streptococci of human and animal origin by group precipitin tests. (Journ. of Bact. Vol. 27. 1934. p. 527—534.)

Die Versuche wurden mit Stämmen unternommen, die zur Gruppe der wenig Säure bildenden, Natriumhippurat nicht hydrolisierenden Gruppe gehören. Bereits in früheren Arbeiten konnte Verf. eine Trennung dieser Stämme in 3 Gruppen vornehmen, von denen 2 mit Sicherheit durch ihre fermentative Leistung von Streptokokken menschlichen Ursprungs getrennt werden können. Bei der 3. Gruppe, dem Typus B Edwards, war dagegen eine sichere Unterscheidung nicht möglich. Die vorliegende Arbeit erbringt nunmehr den Beweis, daß mit Hilfe der Präzipitinreaktion eine derartige Unterscheidung möglich ist, wenn als Antigen salzsaure Extrakte der Organismen verwendet werden. Die Präzipitinreaktionen wurden nach der Methode von Lancefield durchgeführt. Die 3 von Edwards aufgestellten Gruppen tierischer Streptokokken gehören serologisch zu derselben Gruppe, während menschliche Streptokokken einer anderen serologischen Gruppe angehören. Richter (Kiel).

Eaton, M. D., Studies on Pneumococcus variation. I. Variants characterized by rapid lysis and absence of normal growth under the routine method of cultivation. (Journ. of Bacter. Vol. 27. 1934. p. 271—291.)

Die vom Verf. untersuchten Varianten der Pneumokokken zeichneten sich dadurch aus, daß sie bei Züchtung bei 37° einer sehr schnellen Lyse unterlagen, die entweder die Bildung von Kolonien auf Blutagar vollständig verhinderte oder doch nur eine Bildung von kleinen, durchscheinenden Kolonien gestattete. Die Varianten wurden daher von Verf. als Phantomkolonien bildend oder als P-C-Formen bezeichnet. Derartige Formen konnten nicht nur aus Laboratoriumsstämmen, sondern auch aus frischem, klinischem Material gewonnen werden. Als beste Methode zur Gewinnung der P-C-Formen erwies sich die Vorkultur der Pneumokokkenstämme auf Blutagar bei 25° bis zur Knöpfchenbildung auf den Primärkolonien (3—8 Tage). Die Knöpfchenbildung ist nach Verf. als Indikator für die beginnende Dissoziation anzusehen. Bei Weiterzüchtung auf frischem Nährboden bei 25° treten dann die ersten Dissoziationen auf. Bei der Untersuchung des Wachstums im Agar-Deckglaspräparat bei 37° zeigen die P-C-Formen normale Entwicklung bis zur Bildung einiger Ketten, dann beginnt eine Schwellung der Organismen, auf die ein Zerreißen und schließlich Lyse folgt. Als Überrest verbleibt ein gramnegativer Detritus. Die Erscheinung ist nicht auf Phagenwirkung oder Autolyse zurückzuführen, da durch Herabsetzung der O_2-Tension bzw. durch Erhöhung der CO_2-Tension die Erscheinungen vollständig unterdrückt werden können. Eine Rückverwandlung in die Normalform war in vielen Fällen dadurch möglich, daß die P-C-Formen, die in flüssigen Blutnährböden bei ph = 7,0 wachsen, allmählich in immer alkalischeren Nährböden fortgezüchtet wurden. Die Virulenz der P-C-Formen war außerordentlich verschieden, neben Stämmen normaler Virulenz und avirulenten Stämmen fanden sich alle Übergänge. Richter (Kiel).

Caldwell, M. E., Studies on dissociation of certain paratyphoid bacilli. The rôle of variants in the precipitation of calcium sulphite. (Journ. of Bact. Vol. 27. 1934. p. 121—162.)

Bei der Untersuchung von Stämmen der Paratyphusgruppe konnten in den Kulturen dunkle Körper beobachtet werden, deren Größe zwischen 5 und 15 μ schwankte. Die dunkle Färbung war auf die Ausfällung von Kalziumsulfit zurückzuführen. Vergesellschaftet mit diesen „Thiosomen" traten helle tochterkolonieähnliche Gebilde auf, die als „atypische Thiosomen" bezeichnet werden. Es handelt sich um Zellvarianten, die die Fähigkeit zur Ausfällung von Kalziumsulfit besitzen. Die Varianten traten sowohl in salzhaltigen als auch in salzfreien Kulturen auf. Es ist möglich, daß derartige Varianten an der Bildung von Konkretionen bei bestimmten Erkrankungen des Menschen ursächlich beteiligt sind. Thiosomen konnten außer bei Paratyphusbakterien noch bei Bact. typhi und Bact. coli nachgewiesen werden. Richter (Kiel).

Lemoigne, M. et **Desveaux, R.**, Sur l'origine du deficit d'azote des cultures microbiennes aérobiés. (Compt. Rend. Acad. Sciences. Vol. 199. 1934. p. 384.)

Verff. beobachteten in Kulturen von Bacillus pyocyaneus auf Pepton als N-Quelle bemerkenswerte Verluste an Stickstoff, die weder durch NH_3-Verflüchtigung zu erklären waren, noch durch analytische Fehler verursacht sein konnten. In den ersten Wochen nach Ansetzen der Kulturen blieb der N-Gehalt konstant, um dann nach Ablauf von 5—6 Monaten bis zu 30% des Anfangsgehalts abzunehmen. Ohne dafür den Beweis geliefert zu haben, glauben Verff. annehmen zu können, daß es sich um eine Oxydation des bei der Peptonspaltung freiwerdenden Ammoniaks bis zum Stickstoff handelt. Engel (Berlin).

Burk, D., Lineweaver, H., and **Horner, C. K.,** The specific influence of acidity on the mechanism of nitrogen fixation by Azotobacter. (Journ. of Bact. Vol. 27. 1934. p. 325—340.)

Als Maßstab für das Wachstum wurde die Steigerung des O_2-Verbrauchs in der Zeiteinheit benutzt. Parallel hiermit geht die Zunahme der Trübung, der Trockensubstanz und der Zahl der Organismen. Die Versuche ergaben, daß freier N_2 bis zu einem p_H von 5,0 als Nährstoff verwendet werden kann. Die stärkste Aufnahme ergab sich bei p_H 7,8. Eine Inaktivierung der Zellen findet erst bei p_H-Werten unter 5,0 statt. Gebundener Stickstoff kann bis zu einer unteren Grenze von $p_H = 4,5$ oder noch weniger ausgenutzt werden. Auch hier liegt das Maximum der Ausnutzbarkeit bei $p_H = 7,8$. Die Ausnutzungskurven weisen jedoch typische Unterschiede auf. Der Grenzwert von $p_H = 6,0$ für die Ausnutzung von freiem N_2 kann nicht verschoben werden. Veränderungen des Ca- und Sr-Gehalts, sowie der N_2-Tension erwiesen sich als wirkungslos, Die Michaelis-Konstante für N-Fixation ist von der Reaktion, dem Ca- und dem Sr-Gehalt unabhängig. Für das N-bindende Enzymsystem wird der Name Azotase und für das für die N_2-Bindung notwendige Teilenzym der Name Nitrogenase vorgeschlagen.
Richter (Kiel).

Hartsell, St. E., and **Rettger, L. F.,** A taxonomic study of „Clostridium putrificum" and its establishement as a definite entity — Clostridium lentoputrescens, nov. spec. (Journ. of Bact. Vol. 27. 1934. p. 497—517.)

Die Frage, ob Cl. putrificum als Art anzusehen ist, ist neuerdings von Cunningham wieder aufgeworfen, der Cl. putrificum

als identisch mit B. cochlearis ansieht und nicht für identisch mit mit B. putrificus Bienstock hält. In der vorliegenden Arbeit wird der Nachweis geführt, daß Cl. putrificum sowohl von B. cochlearis als auch von dem von Cunningham als B. putrificus angesehenen Organismus verschieden ist. Von Cl. cochlearis unterscheidet er sich in morphologischer Beziehung durch die Sporenform und in physiologischer Beziehung durch sein Verhalten gegenüber Kohlehydraten sowie durch die Fähigkeit zur Proteolyse. Ein genauer Vergleich mit dem von Bienstock aufgestellten Typ ist nicht möglich, da Bienstocks Beschreibung zu ungenau ist, und da B. z. T. mit unreinen Stämmen gearbeitet hat. Es erscheint daher zweckmäßig, die Art neu zu benennen. Als Name wird die Bezeichnung Cl. lentoputrescens vorgeschlagen, da die langsame Proteolyse ein hervorstechendes Merkmal der Art bildet.

Richter (Kiel).

Sherman, J. M., and Cameron, G. M., Lethal environmental factors within the natural range of growth. (Journ. of Bact. Vol. 27. 1934. p. 341—348.)

Während es bei Tieren und höheren Pflanzen bekannt ist, daß plötzliche Änderungen der Umweltsfaktoren zum Tode führen können, ist hierüber bei Bakterien nur ein geringes Material vorhanden. Verff. untersuchten nun an Bact. coli, wieweit plötzliche Wechsel der Umweltfaktoren auf die Lebensfähigkeit einwirken. Die bei diesen Versuchen vorgenommenen Variationen hielten sich im Rahmen der natürlichen Wachstumsbedingungen. Die Versuche zeigten, daß plötzliche Schwankungen der Temperatur und starke Veränderungen des osmotischen Druckes der Nährböden einen großen Teil der Zellen abzutöten vermögen. So starben bei einem plötzlichen Wechsel der Züchtungstemperatur von 45 auf 10° mehr als 90% der Zellen innerhalb der ersten Stunde, wenn mit jungen Zellen gearbeitet wurde. Diese Abtötung konnte nicht beobachtet werden, wenn der Wechsel langsam vollzogen wurde. Änderungen der Reaktion des Nährmediums hatten keinen Einfluß.

Richter (Kiel).

Walker, H. H., Winslow, C. A., Huntington, E., and Mooney, M. G., The physiological youth of a bacterial culture as evidenced by cell metabolism. (Journ. of Bact. Vol. 27. 1934. p. 303—324.)

Die Untersuchungen bilden die Fortsetzung und Ergänzung von früheren Versuchen der Verff., die festgestellt hatten, daß unmittelbar vor dem Beginn der Phase der logarithmischen Vermehrung eine wesentliche Steigerung der Zellaktivität zu beobachten ist. Die vorliegenden Untersuchungen sollten eine genauere Beurteilung dieses Problems ermöglichen. Als Testorganismus wurde der gleiche Stamm von B. coli wie zu den früheren Versuchen verwendet. Als Maß für die Stoffwechsel-Energie diente die Bestimmung der gebildeten Mengen von NH_3 und CO_2. Die Versuche ergaben, daß am Ende der „Inkubationsperiode“ und im Beginn der Phase der logarithmischen Vermehrung eine erheblich stärkere NH_3- und CO_2-Produktion stattfindet als zu Beginn der Versuche und während der älteren Stadien der Kultur. Die Steigerung der CO_2-Menge pro Zelle gegenüber der Anfangsproduktion ist allerdings nur derart, daß sie durch die Größenzunahme der Einzelzellen erklärt werden kann, während die NH_3-Produktion eine erheblich stärkere Zunahme aufweist. Vergleicht man aber die in den ersten

Phasen der Vermehrung gebildeten Mengen mit den während der Endstadien der Vermehrung bzw. in der auf diese folgenden Ruheperiode gebildeten Mengen, so ergibt sich für die Anfangsphasen für CO_2 eine 50fache und für NH_3 eine 100fache Steigerung, trotzdem die Zellen höchstens eine Vermehrung um das Zehnfache erfahren. Richter (Kiel).

Berry, J. A., and Magoon, C. A., Growth of microorganisms at and below 0° C. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 780—786, 1 fig.)

Verff. geben zunächst eine umfangreiche Literaturübersicht über Versuche mit Mikroorganismen bei Temperaturen um 0° C und darunter. Bei eigenen Versuchen zeigten bei — 4° C Pseudomonas fluorescens und Arten von Lactobacillus, Torula, Monilia und Penicillium Wachstum. Arten von Cladosporium und Sporotrichum wuchsen bei — 6,7° C. Da die Eisbildung bei Versuchen unter 0° C den Organismen schädlich ist, müssen Nährböden gewählt werden, die bei der Versuchstemperatur keine Eisbildung zeigen. Bei Untersuchungen bei — 4° C konnte das durch Zusatz von 3% NaCl zu Bouillon oder Agar erreicht werden.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Kriebel, R. M., A comparative bacteriological study of a group of non-lactose-fermenting bacteria isolated from stools of healthy foodhandlers. (Journ. of Bact. Vol. 27. 1934. p. 357—372.)

Bei der Untersuchung von Stuhlproben von 127 Lebensmittelhändlern fanden sich in 25 Proben Milchzucker nichtvergärende Bakterien, die auf den ersten Platten große Ähnlichkeit mit pathogenen Stämmen aufwiesen. Die genauere Untersuchung ergab, daß diese Stämme auf Grund ihres Vergärungsvermögens in 7 Gruppen eingeteilt werden können. Durch fortgesetzte Züchtung in 5proz. Laktoselösung gelang es, den größten Teil der Stämme an Laktosespaltung zu gewöhnen, 10 Stämme vermochten allerdings auch unter diesen Umständen nur eine schwache Vergärung hervorzurufen. Nach Ansicht der Verf.n handelt es sich bei den untersuchten Stämmen um solche, die als Varianten des B. coli anzusehen sind, da sie bei der Fortzüchtung normale B. coli abspalten. Richter (Kiel).

Mohr, W., Weitere Untersuchungen über den Bakterienantagonismus innerhalb der gleichen Art. (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 111. 1934. S. 197—213.)

Der Bakterienantagonismus innerhalb einer Art konnte in vivo und in vitro nachgewiesen werden bei den Pneumokokkentypen, Ruhrtypen, Typhustypen und bei den Typen der Paratyphus-Enteritis-Gruppe. Der Antagonismus aber beschränkt sich nicht auf Stämme verschiedener Typen, sondern zeigt sich auch bei Stämmen, die den gleichen Typen angehören. Es spielt dabei weder der quantitative Faktor der Menge noch der qualitative der Virulenz allein eine ausschlaggebende Rolle. Von maßgeblicher Bedeutung scheint vielmehr ein weiterer Faktor zu sein, der vorläufig mit dem Begriff „Konkurrenzfähigkeit“ umschrieben wird.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Nielsen, N., and Hartelius, V., Investigations of the growth of Aspergillus niger at different hydrogen ion concentrations, with and without the addition

of growth promoting substance B. (Comptes Rendus Laboratoire Carlsberg. Vol. 19. 1931—1933. Nr. 15.)

Ohne Wuchsstoff lag das ph-Optimum für das Wachstum des Pilzes bei etwa 3,0, während in Gegenwart des Wuchsstoffes der optimale ph-Wert zwischen 6,0 und 7,0 lag. Der Anfangs-ph-Wert der Nährlösung war für die Wirkung des Wuchsstoffes von großer Bedeutung. Je höher dieser lag, desto mehr Pilzmyzel wurde gebildet im Vergleich zur wuchsstofffreien Nährlösung. Nach 8tägigem Wachstum setzte in den wuchsstofffreien Kulturen starke Autolyse ein. Diese blieb jedoch aus, falls der Anfangs-ph-Wert unter 2,1 lag. Auch die Konidienbildung war um so ausgeprägter, je geringer der anfängliche Aziditätsgrad war. Unter ph 2,1 fand keine Konidienbildung statt. Engel (Berlin).

Hartelius, V., The occurrence of growth substance B in urine. (Comptes Rendus Laboratoire Carlsberg. Vol. 19. 1931—1933. Nr. 18.)

Im Menschenharn wurden große Mengen des Wuchsstoffes B gefunden. Die Mengen desselben stiegen mit dem Gehalt des Harns an Trockensubstanz. Daß es sich um den Wuchsstoff B handelte, zeigten die Eigenschaften desselben: Das Wachstum von Aspergillus niger wurde gefördert, aber nur dann, wenn gleichzeitig noch ein Co-Wuchsstoff zugegen war; der wachstumsfördernde Stoff war thermostabil, wurde von H_2O_2 nicht oxydiert und war unlöslich in Äther. Da der Trockensubstanzgehalt des Urins von der aufgenommenen Nahrungsmenge abhängig ist, und der Wuchsstoff-mit dem Trockensubstanzgehalt parallel ging, stammte der Wuchsstoff wahrscheinlich aus der Nahrung. Engel (Berlin).

Nielsen, N., Investigations on the assimilation of growth substances by yeast from wort. (Comptes Rendus Laboratoire Carlsberg. Vol. 20. 1934. Nr. 1.)

Der in Bierwürze befindliche, die Trockensubstanzbildung der Hefe fördernde Stoff war unlöslich in Äther und wurde durch Erwärmen mit H_2O_2 nicht zerstört. Er gehörte demnach der vom Verf. mit B bezeichneten Wuchsstoffgruppe an. Es konnte gezeigt werden, daß die Hefe den Wuchsstoff assimiliert. Da aber nur ein bestimmter Teil des Wuchsstoffes von der Hefe aufgenommen wurde, während ein anderer Teil in der Würze zurückblieb, muß angenommen werden, daß es sich hier um 2 oder noch mehr Stoffe handelt. Die Menge des von der Hefe assimilierten Wuchsstoffes war von der Hefemenge sowie von der Einwirkungsdauer der Hefe auf die Würze abhängig. Der assimilierte Anteil war kein metallischer Co-Wuchsstoff, wie etwa angenommen werden konnte. Engel (Berlin).

Nielsen, N., and Hartelius, V., The separation of growth promoting substances. (Compt. Rend. Laboratoire Carlsberg. Vol.19. 1931—1933. Nr. 8.)

Der durch Rhizopus suinus gebildete, das Wachstum von Hafer, Aspergillus und der Haferkoleoptile fördernde Wuchsstoff Rhizopin erwies sich bei näherer Nachprüfung nicht als einheitlich. Er enthielt mindestens zwei Stoffe: eine von Verff. mit A bezeichnete Substanz, die das Wachstum der Haferkoleoptile förderte, löslich in Äther war und durch Oxydation leicht zerstört werden konnte; eine zweite Substanz B, die das

Myzelwachstum von Aspergillus niger förderte, unlöslich in Äther war und nicht durch Oxydation unwirksam gemacht werden konnte. Ob es sich bei den beiden Wuchsstoffen A und B wiederum um noch weiter differenzierbare Substanzen handelt, soll ferneren Untersuchungen vorbehalten sein. Engel (Berlin).

Nielsen, N., The effect of rhizopin on the production of matter of Aspergillus niger. (Comptes Rend. Laboratoire Carlsberg. Vol. 19. 1931—1933. Nr. 5.)

Verf. zeigte, daß Rhizopin, der von Rhizopus suinus gebildete Wuchsstoff, nicht nur das Wachstum der Haferkoleoptile und der Hefe förderte, sondern auch die Myzelbildung von Aspergillus niger günstig beeinflußte. Je mehr Rhizopin gegeben wurde, desto besser wuchs der Pilz, doch war oberhalb einer gewissen Rhizopinkonzentration keine Steigerung mehr zu erzielen. Auffallend stark war die nach Erreichung des Höchstgewichtes einsetzende, nur in den rhizopinhaltigen Kulturen zu beobachtende Autolyse. Auch die Konidienbildung wurde durch den Rhizopinzusatz stark gefördert. Ob es sich bei der Förderung des Wachstums der Hefe, des Schwarzschimmels sowie der Haferkoleoptile um ein und denselben Wuchsstoff handelte, mußte dahingestellt bleiben.

Engel (Berlin).

Konokotina, A. G., Savshinskaya, L. V., and Schultz, G. E., Fat yeast and its practical importance. (Bull. of the State Inst. of Agric. Microbiol. U.S.S.R. Vol. 5. 1933. p. 142—151.) [Russ. m. engl. Zusfassg.]

Die schon während des Krieges zum Zwecke der Fettgewinnung von Lindner in Vorschlag gebrachte Hefe Endomyces vernalis wurde von den russischen Verff. u. a. auch auf gefrorenen Kartoffeln gezüchtet, ebenfalls mit dem praktischen Ziel, ein neues Verfahren zur industriellen Erzeugung von Fett ausfindig zu machen. Die Ausbeuten betrugen bestenfalls 9% der trockenen Kartoffelmasse. Bortels (Berlin-Dahlem).

Link, G. K. K., and Wilcox, H. W., Precipitin-ring test applied to fungi. II. (The Botanical Gazette. Vol. 95. 1934. p. 1.)

Es wurde der Versuch unternommen, gewisse pflanzenpathogene Ascomyceten und Fungi imperfecti nach der serodiagnostischen Methode zu klassifizieren. Es handelte sich vor allem um zahlreiche Vertreter der Gattung Fusarium und um einige nahe Verwandte, deren Stellung noch unklar ist, die vielleicht nur Konidialstadien bestimmter Ascomyceten sind und die nach der bekannten Präzipitin-Ring-Methode evtl. eingegliedert werden können. So wurden über 20 verschiedene Fusariumarten geprüft, ferner Cylindrocarpon album, Neurospora tetrasperma, Sclerotinia fructicola u. a. Das Ergebnis war nicht sehr befriedigend. In der überwiegenden Zahl der Fälle versagte die Methode, d. h. die Präzipitinreaktion war unspezifisch. Es zeigte sich weiter, daß die Art der Immunisierung der Versuchstiere, die Schwankungen der H-Ionenkonzentration des Immunserums und vor allem der Antigenlösungen, sowie die Schwankungen im N-Gehalt der verschiedenen Antigene für das Versagen nicht verantwortlich zu machen waren.

Engel (Berlin).

Barnes, B., Spore discharge in Basidiobolus ranarum Eidam. (Annals of Botany. Vol. 48. 1934. p. 453.)

Die Versuche zeigten, daß der Pilz seine Konidien zum Licht hin schleudern kann, ähnlich wie der Fliegenschimmel oder wie Pilobolus. Die Flughöhe betrug bei den Versuchen des Verf.s 1 cm. Der Pilz wuchs auf Kartoffelextraktagar. Die gegenteiligen Beobachtungen Nowaks scheinen damit hinfällig zu sein und die alten Befunde Eidams zu Recht zu bestehen. Engel (Berlin).

Findlay, W. P. K., Studies in the physiology of wood-destroying fungi. I. The effect of nitrogen content upon the rate of decay of Timber. (Annals of Botany. Vol. 48. 1934. p. 109.)

Die Zerstörung des Holzes von Picea sitchensis durch Trametes serialis und von Fagus silvatica durch Polystictus versicolor konnte durch Zusatz verschiedener N-Verbindungen wesentlich beschleunigt werden. Den größten Einfluß in dieser Richtung übte Pepton aus, aber auch NH_4NO_3 vermochte die Zersetzung des Holzes zu fördern. Dieses Ergebnis war in Anbetracht der großen N-Armut der meisten Holzarten zu erwarten. Engel (Berlin).

Jørstad, Ivar, A study on Kamtchatka Uredinales. (Skrifter Norske Videnskaps-Akad. Oslo, I. math.-naturvid. Klasse, 1933. No. 9. Oslo 1934. 183 S., 22 Abb.)

Eine erschöpfende systematische Abhandlung des bekannten Mykologen über die auf der Halbinsel Kamtschatka bisher vorgefundenen 90 Rostpilzarten. Von ihnen wurden angesprochen als pazifische Arten 10, eurasiatische 23, eurasiatisch-westamerikanische 13, eurasiatisch-ostamerikanische 5, amerikanische 1, zirkumpolare 38; insgesamt 90. — Sie verteilen sich auf die einzelnen Typen wie folgt: Mikroformen 21, Brachyformen 4, Autopsisformen 6, Heteropsisformen 1, Auteuformen 15, Hetereuformen 36, vermutliche Hetereuformen 4, Stellung fraglich 3. Köhler (Berlin-Dahlem).

Birkeland, J. G., Serological studies of plant viruses. (The Botanical Gazette. Vol. 95. 1934. p. 419.)

Es wurde der Versuch unternommen, die an sich schwer klassifizierbaren verschiedenen Virusarten nach der serologischen Präzipitin-Ring-Methode zu unterscheiden. Es zeigte sich, daß das Antigen viruskranker Pflanzen zusammengesetzter Natur ist. Es besteht aus dem Antigen normaler gesunder Pflanzen und einer weiteren Antigenfraktion, die virusspezifisch ist und möglicherweise das Virus selbst darstellt. Es gelang dem Verf., die beiden Komponenten durch Filtration mit Seitz-Filtern mit nachfolgenden bestimmten Reinigungsverfahren voneinander zu trennen und mit der gereinigten Virusfraktion positive Präzipitinreaktionen zu bekommen. Auf diese Weise erhielt er gut differenzierte Viren. Hauptsächlich untersucht wurden: das Virus der Ringfleckigkeit beim Tabak (Tobacco virus V Johnson), das Virus der Mosaikkrankheit beim Tabak (Tobacco virus I Johnson) und das Virus der "spot necrosis" (Tobacco virus IV Johnson). Engel (Berlin).

Duggar, B. M., and Hollaender, A., Irradiation of plant viruses and of microorganisms with monochromatic light. I. The virus of typical tobacco mosaic and

Serratia marcescens as influenced by ultraviolet and visible light. (Journ. of Bacter. Vol. 27. 1934. p. 219—240.)

Zu den Versuchen wurde als Lichtquelle eine Hg-Dampflampe hoher Energie verwendet. Die einzelnen Wellenbezirke wurden mit Hilfe eines Monochromators aus dem gesamten Strahlengebiet gewonnen. Zur Messung der aufgenommenen Energie wurden Differenzmessungen gegen Wasser mit Hilfe einer hochempfindlichen Thermosäule durchgeführt. Um wirklich vergleichbare Werte zu erhalten, wurden die Bakterien gemeinsam mit dem Virus in entsprechender Verdünnung bestrahlt. Die Versuche wurden mit 12 Wellengruppen im Bereich von 2537—6120 Å durchgeführt. Für das Virus ist eine inaktivierende Wirkung an Wellenlängen unter 3100 Å gebunden, die stärkste Wirkung wurde durch Strahlen im Gebiet von 2652 Å ausgeübt. Bei den Bakterien fiel das Maximum der Wirkung ebenfalls in das Gebiet von 2652 Å, ebenso scheint die obere Wirkungsgrenze bei 3100 Å zu liegen. Die Messungen der zur Inaktivierung bzw. zur Abtötung notwendigen Energiemengen zeigten, daß die Bakterien wesentlich empfindlicher sind als das geprüfte Virus, das Verhältnis der notwendigen Energiemengen beträgt etwa 200 : 1. Richter (Kiel).

Duggar, B. M., and Hollaender, A., Irradiation of plant viruses and of microorganisms with monochromatic light. II. Resistance to ultraviolet radiation of a plant virus as contrasted with vegetative and spore stages of certain bacteria. (Journ. of Bact. Vol. 27. 1934. p. 241—256.)

Die zu den Versuchen verwendete Apparatur war gegenüber der früheren etwas modifiziert, es wurde unter anderem eine neuartige Expositionszelle verwendet und der gesamte Aufbau wesentlich vereinfacht. Als Testorganismen kamen B. subtilis (Sporen und vegetative Form) und B. megatherium (Sporen) zur Anwendung. Besonderer Wert wurde auch in dieser Arbeit auf eine möglichst gleichmäßige Herstellung der Suspensionen gelegt. Die Versuche zeigten, daß das Maximum der Wirkung bei allen Stadien und Organismen wieder bei einer Wellenlänge von 2562 Å lag. Die Versuche bei B. subtilis ergaben ferner, daß kein großer Unterschied in der Resistenz der vegetativen und der Sporenform vorhanden ist. Die zur Erzielung einer gleichen Abtötungswirkung notwendigen Energiemengen standen im Verhältnis von annähernd 4 : 5. Die zur Abtötung von Sporen von B. megatherium notwendige Energie war wesentlich größer als bei B. subtilis. Bei Wellenlängen oberhalb 3000 Å war auch bei diesen Versuchen praktisch keine Einwirkung mehr festzustellen. Verff. halten jedoch ihr bisheriges Material noch nicht für ausreichend, um über die Wirksamkeit bzw. vollständige Unwirksamkeit in diesem Gebiet sichere Schlüsse zu ziehen. Auch bei diesen Versuchen war die Resistenz des gleichzeitig geprüften Virus viel höher als die Resistenz der Sporen, was darauf zurückgeführt wird, daß sie einer ganz anderen Größenordnung angehören.

Richter (Kiel).

Enzymologie und Bakteriophagie.

Stone, F. M., and Hobby, G. L., A coccoid form of C. diphtheriae susceptible to bacteriophage. (Journ. of Bact. Vol. 27. 1934. p. 403—417.)

Aus einem typischen Stamm von C. diphtheriae gelang es, durch

Fortzüchtung auf Kalbfleisch-Nährlösung eine kokkenförmige Variante zu erhalten. Es gelang, gegen diesen Stamm und gegen 3 weitere Stämme von C. diphtheriae Bakteriophagen zu gewinnen. Die Bakteriophagen konnten außer aus Faeces von Kranken und aus Darminhalt und Peritonealflüssigkeit infizierter Meerschweinchen noch aus alten Kulturen, die bei Zimmertemperatur mehrere Wochen gestanden hatten, gewonnen werden. Als besonders empfindlich erwies sich eine Einzell-Kultur der kokkenförmigen Variante. Mit dieser Kultur gelang eine Steigerung der Empfindlichkeit bis zur Verdünnung 10^{-6} für den Bakteriophagen. Die kokkenförmige Variante muß daher als das gegen Bakteriophagen empfindliche Entwicklungsstadium des C. diphtheriae angesehen werden. Die kokkenförmige Variante zeigte bei Meerschweinchenblut-Nährböden starke Hämolyse.

Richter (Kiel).

Plummer, H., The fermentation of Sorbitol and Trehalose by haemolytic streptococci from various sources. (Journ. of Bact. Vol. 27. 1934. p. 465—472.)

Geprüft wurden 328 Stämme menschlicher und 18 Stämme tierischer Herkunft. Von den Stämmen menschlicher Herkunft würden 49 nach den bisher üblichen Verfahren als tierischen Ursprungs angesehen werden, sie zeichneten sich aber sämtlich dadurch aus, daß sie Trehalose, aber nicht Sorbit vergären konnten. In Übereinstimmung mit den Untersuchungen von Edwards müssen sie daher als von menschlicher Herkunft angesprochen werden. Von den 18 Stämmen tierischer Herkunft konnten 6 nicht durch die üblichen Methoden von Stämmen menschlicher Herkunft getrennt werden, 4 dieser Stämme stammten von Kühen, die als Ursache epidemischer Halsentzündungen verdächtig waren. Richter (Kiel).

Collins, M. A., and Hammer, B. W., The action of certain bacteria on some simple tri-glycerides and natural fats as shown by nile-blue sulphate. (Journ. of. Bact. Vol. 27. 1934. S. 473—485.)

Die Untersuchungen sollten zeigen, ob Nilblausulfat als geeigneter Indikator zur Erkennung der Fettspaltung von Bakterien angesehen werden kann. Zu den Untersuchungen, die sämtlich auf festem Nährboden durchgeführt wurden, wurde ein Agar verwendet, der 0,5% Fett und 0,01% Nilblausulfat enthielt. Durch den Farbstoffzusatz werden die Triglyzeride der Fettsäuren rot gefärbt, die Färbung ist bei den Glyzeriden mit niedrigmolekularen Fettsäuren am intensivsten und nimmt mit zunehmendem Schmelzpunkt mehr und mehr ab. Die freien Fettsäuren werden blau gefärbt, auch hier ist die Färbung bei den niedrigmolekularen am intensivsten, während Palmitin- und Stearinsäure nur noch eine schwache Färbung aufweisen. Fettzersetzung durch Bakterien konnte bei Tricaprylin am leichtesten durch das Verschwinden der Kügelchen, bei höheren Triglyzeriden und bei natürlichen Fetten besser durch den Farbumschlag erkannt werden. Glyzeride niedrig-molekularer Fettsäuren wurden leichter angegriffen als solche höher molekularer. Richter (Kiel).

Collins, M. A., and Hammer, B. W., Types of lipolysis brought about by bacteria as shown by nileblue sulphate. (Journ. of Bact. Vol. 27. 1934. p. 487—496.)

Zu den Versuchen wurde Bouillonagar mit Zusatz von 0,5% Butterfett und 0,01% Nilblausulfat verwendet. Geprüft wurden insgesamt 159 Stämme,

die aus Wasser, Milch und Molkereiprodukten stammten. Bei der Beurteilung der Fettzersetzung wurde außer gleichförmiger und ungleichförmiger Fettzersetzung (Umschlag der Farbe der Fettkügelchen unter der Kolonie) noch die Frage der Diffusion der Lipase in den Nährboden geprüft und bewertet. 102 Stämme verursachten gleichmäßige Lipolyse, der Rest ungleichmäßige. In beiden Gruppen fanden sich Organismen, bei denen das Enzym in verschiedenem Maße in den Nährboden diffundieren kann. Innerhalb einer Art zeigten die einzelnen Stämme verschiedenen Typ der Zersetzung, während die Stämme stets den gleichen Zersetzungstyp aufwiesen. 113 Stämme zeichneten sich durch Proteolyse aus, 82 wiesen sehr starke proteolytische Erscheinungen auf. Bei Einimpfung in sterilen Rahm (3 ccm Kultur auf 500 ccm Rahm) vermochten 80 Stämme die aus dem Rahm hergestellte Butter ranzig zu machen, diese Stämme wiesen im allgemeinen gleichmäßige Fettzersetzung auf. Richter (Kiel).

Sanfelice, Fr., Der Antagonismus des Milzbrandbazillus gegenüber dem Bact. coli. (Archiv f. Hyg. u. Bakt. Bd. 110. 1933. S. 348—354.)

Die Versuche lassen den Schluß zu, daß die Colibakterien in vivo und in vitro ein Enzym zu produzieren vermögen, das eine antagonistische Wirkung gegenüber dem Milzbrandbazillus ausübt. Das Enzym kann Porzellankerzen nicht passieren. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Birch-Hirschfeld, L., Versuche zur Analyse der Pyocyanase. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 116. 1934. S. 304—314.)

Die bakterizide Wirkung von Pyocyanaselösung beruht auf ihrem Gehalt an hochmolekularen Fettsäuren, die zum größten Teil in Form löslicher Salze, zu einem nur ganz geringen Teil auch als freie Säuren vorliegen. Die hämolytische Wirkung der Kulturlösungen ist ebenfalls an die Gegenwart der Fettsäuren gebunden. Die von Fettsäuren befreite Pyocyaninlösung war bakterizid unwirksam. — Zur schnellen Erzielung konzentrierter Pyocyanaselösung erwies sich die Kultur auf Zellophanagar geeignet.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Grassi, L., Die Hygiene der städtischen Milchversorgung. X. Weltkongreß f. Milchwirtschaft Rom-Mailand 1934. II. Sekt. B, Generalbericht.

Einleitend wird ausgeführt, daß die Hygiene der städtischen Milchversorgung ein soziales Problem ist. Dieses zeigt drei grundsätzlich verschiedene Seiten, von denen jede außerordentlich wichtig ist. Sie betreffen: 1. Erzeugung und Transport, 2. Gesundheitliche Sicherung durch Erhitzung, 3. Verteilung. Zu 1. Die drei Grundelemente hygienischer Milchgewinnung sind Gesundheit der Tiere und Melker, Reinlichkeit und Kühlung; sie büßen ihre Bedeutung keineswegs ein, wenn die Milch später pasteurisiert wird. Zur Durchführung hygienischer Milchgewinnung wird die obligatorische Kontrolle am Gewinnungsort gefordert. Diese muß in zweierlei Weise in die Wege geleitet werden, nämlich durch vorläufigen Besuch zur Feststellung der Stallverhältnisse usw. und durch periodische Kon-

trollinspektion. Zu 2. Auch eine hygienisch einwandfrei gewonnene Milch bietet infolge evt. nachträglicher Infektion keine Sicherheit gegenüber Krankheitskeimen, weshalb sie durch schonende Erhitzung in einen vom gesundheitlichen Standpunkt aus sicheren Zustand überzuführen ist. Hierbei sind einige Grundprinzipien festzuhalten, die von der italienischen Gesetzgebung vorgesehen sind: a) die Milch von der pathogenen Flora zu befreien ohne ihren Feinaufbau zu verändern; b) der Ortsbehörde die Befugnis zuzuerkennen, die Pasteurisation der gesamten für die städtische Versorgung in Frage kommende Milchmenge als obligatorisch zu erklären; c) die Milch vor der Pasteurisierung auf ihren hygienischen Zustand zu prüfen; d) nach der Pasteurisierung die bakteriologische Kontrolle auszuführen, um sich über die rationelle Durchführung des Verfahrens zu vergewissern; e) die Gesamtmenge der pasteurisierten Milch auf Flaschen abzufüllen mit Ausnahme der kollektiv gelieferten Milch (Schulen, Spitäler), die auf Wunsch der Abnehmer in Kannen abgegeben werden kann; f) eine systematische Kontrolle der Pasteurisieranlage durchzuführen, um sich über deren fortwährend regelmäßige Funktion zu vergewissern. Wo keine Pasteurisierung in dem ausgeführten Sinne möglich ist, muß das Aufkochen der Milch zuhause empfohlen werden, als dem einzigen Mittel die Gefahren abzuschwächen, die eine Milch oft unbekannter Herkunft in sich bergen kann. Zu 3. Die zum Verkauf kommende Milch kann zwei Qualitäten aufweisen: a) gewöhnliche rohe Milch, ohne jede Kennzeichnung, b) pasteurisierte Milch.

Die gewöhnliche Milch soll im Maße des hygienischen Fortschrittes verschwinden; bis dorthin ist dafür zu sorgen, daß wenigstens der offene Verkauf möglichst unterbunden wird. Für die pasteurisierte Milch kommt nur der Verkauf in Flaschen in Frage. Besondere Aufmerksamkeit ist auch den Milchläden zu schenken. Für deren Zulässung müssen folgende Voraussetzungen erfüllt sein:

a) Günstiger hygienischer Zustand des Verkaufslokals;

b) günstiger Gesundheitszustand der mit dem Verkauf beschäftigten Personen sowie deren Familienmitglieder;

c) Vorhandensein aller geeigneten Mittel, um die regelmäßige Reinigung und Sterilisation der für die Aufbewahrung und Verteilung der Milch benutzten Gefäße zu sichern;

d) Vorhandensein eines Kühlschrankes für Aufbewahrung der Milch bis zum Verkauf.

Als Rohmilch soll neben pasteurisierter Milch nur die beste und vom gesundheitlichen Standpunkt aus einwandfreieste Milch verkauft werden. Ihre Abfüllung in Flaschen kommt nur am Orte der Erzeugung in Frage. Die übrigen Bedingungen für die Herstellung solcher Vorzugsmilch sind bekannt und brauchen nicht mehr geschildert zu werden. Auch eine Belehrung des Konsumenten ist notwendig, da Milchverderbnis und Infektion sehr oft auch im Haushalt vorkommen. Insbesondere sind ihm folgende Tatsachen zu vergegenwärtigen: daß

a) die gewöhnliche Milch oft in infiziertem Zustand ins Haus gelangt und daher vor dem Genuß aufgekocht werden soll;

b) die pasteurisierte Milch vor Genuß aus diätetischen Gründen im Wasserbad lauwarm gemacht werden soll;

c) das öftere Umgießen der Milch von einem Gefäß ins andere zu vermeiden ist und die Gefäße bedeckt zu halten sind;

d) Belichtung und namentlich direktes Sonnenlicht die Milchverderbnis erleichtert und beschleunigt;

e) die verlängerte Haltbarkeit der Milch durch Aufbewahrung im Dunkeln und an kühlem Ort erreicht wird.

Die Ausführungen des Verf.s wurden zur endgültigen Annahme der Schlußsitzung des Kongresses unterbreitet, die am 6. Mai 1934 vollzogen wurde. K. J. Demeter (Weihenstephan-München).

Terwen, A. J. L., und Quelle, H. J., Über die bakteriologischen Erfolge mit dem Elektropasteur für Milch nach Aten. (Archiv f. Hyg. u. Bakt. Bd. 112. 1934. S. 273—279.)

Der Apparat arbeitet in der Weise, daß die Milch unten in ein vertikales zylinderförmiges Gefäß aus Glas eingeführt wird, darin durch einige Siebplatten, die zugleich die Elektroden sind, strömt und, vom Wechselstrom geheizt, oben den Apparat verläßt. Die Milch selbst ist Stromleiter, der Widerstand, den sie dem Strom entgegensetzt, bedingt die Heizung. Die Pasteurisierungstemperatur ist, außer von der Stromspannung (220 oder 380 Volt), abhängig von der Anfangstemperatur der Milch und der Geschwindigkeit des Milchstromes. Mit Sicherheit wurde Abtötung der asporogenen pathogenen Bakterien erreicht bei einer Wechselspannung von 220 Volt und bei 67° in 62 Sek., bei 380 Volt infolge des rascheren Milchdurchflusses bei 70°, aber bereits in 26 Sek. Um jedoch auch an heißen Tagen die sichere Garantie zu haben, daß die erhitzte Milch 24 Std. haltbar blieb, mußte die Temperatur auf 93° erhöht werden (bei 220 Volt). Der Pasteurisierungseffekt betrug dann 99,99%, doch war schon deutlicher Kochgeschmack bemerkbar. Auffällig ist, daß auf 85° erhitzte Milch an heißen Tagen hauptsächlich durch thermoresistente Kokken verdarb, die in „pin-point-colonies" wuchsen. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Grimes, M., and Hennerty, A. J., A study of the quantitative changes in the microbiological flora of sweet-cream salted butter of good keeping quality when held at 15° F. for a period of two to eight months. (Journ. of Dairy Res. Vol. 5. 1934. p. 137—143.)

Nach verschieden langer Lagerungszeit in sog. „cold storage" von — 8,5° C wurden aus dem Inneren von 50 Pfd.-Stücken Proben steril entnommen. Die Keimbestimmungen wurden nach dem Standard-Verfahren auf Laktose-Agar durchgeführt, wobei dieser für den Nachweis der Bakterien einen ph von 6,8, für den Nachweis der Schimmel und Hefen einen solchen von 3,5 hatte. Zur Feststellung der Verflüssiger diente Gelatine. Alle Platten wurden 5 Tage lang bei 21° C bebrütet. Ergebnis: Während die Gesamtkeimzahl von Bakterien und Hefen in der frischen Butter allgemein niedrig war, zeigten die Hefen eine Zunahme mit der Lagerungsdauer, ohne daß damit aber eine geschmackliche Verschlechterung im Aroma verbunden gewesen wäre. Die Azidität erlitt eine leichte Zunahme. Was den Milchschimmel betrifft, so war mit Fortdauer der Lagerung ein allgemeines Zurückgehen zu beobachten, wenn auch vereinzelt ein Gleichbleiben oder sogar eine Steigerung der Zahl aufgetreten war. Bezüglich der Gelatineverflüssiger war keine Veränderung zu beobachten. Es wurde auch die prozentuale Verschiebung innerhalb der Bakteriengruppen während rund 3 Monate dauernder „cold storage" näher untersucht.

Hierbei zeigten die schwachen Säurebildner ein deutlich prozentuales Anwachsen bei gleichzeitiger Abnahme der Str. lactis-Formen. Die eigentlichen Alkalibildner blieben zu 3/4 ihrer Ausgangszahl am Leben, während die Eiweißzersetzer unter ihnen wesentlich stärker reduziert wurden. Die starken Säurebildner nahmen prozentual um ungefähr die Hälfte ab, die in Lakmusmilch indifferenten Formen nahmen prozentual derart zu, daß sie nach der Lagerung zu mehr als 1/3 die überlebende Flora repräsentierten.

K. J. Demeter (Weihenstephan-München.)

Frazier, W. C., Sanders, G. P., Boyer, A. J., and Long, H. F., The bacteriology of Swiss cheese. I. Growth and activity of bacteria during manufacturing processes in the Swiss cheese kettle. (Journ. of. Bact. Vol. 27. 1934. p. 539—549.)

Die Entwicklung der Bakterienflora während des Käsungsprozesses wurde sowohl nach der Plattenmethode als auch nach der direkten Methode untersucht. Proben wurden gezogen: a) nach Zusatz von Reinkulturen und Lab, b) beim Beginn des Nachwärmens und c) unmittelbar vor dem Ausschöpfen des Bruchs. Um vergleichbare Werte zu erhalten, wurden bei den Proben nach b) und c) Bruch und Molke z. T. unter Verwendung von Zitratlösung sorgfältig gemischt und der Bakteriengehalt der Mischung bestimmt. An Reinkulturen wurden verwendet: Str. thermophilus, Lactobacillus casei und helveticum, L. bulgaricus und Propionsäurebakterien. Von diesen Organismen zeigte nur Str. thermophilus stärkere Vermehrung während des Käsungsprozesses. Von der originären Milchflora trat bei den Organismen der coli-aerogenes-Gruppe nur dann eine stärkere Vermehrung ein, wenn diese Organismen in großer Zahl in der Milch vorhanden waren. Str. lactis und andere Milchbakterien zeigten nur während der Einlabungsperiode Vermehrung, durch die Nachwärmung wurde dann aber die Weiterentwicklung unterbunden. Die Verschiebung des p_H-Wertes ist nach Ansicht der Verff. auf chemisch-physikalische Einflüsse zurückzuführen.

Richter (Kiel).

Mikrobiologie des Düngers, Bodens, Wassers und Abwassers.

Runov, E. V., Bernard, V. V., and Izrailsky, V. P., On the manufacture and use of Nitragin. (Bull. of the State Inst. of Agric. Microbiol. U.S.S.R. Vol. 5. 1933. p. 82—97.) [Russ. m. engl. Zusfassg.]

Untersuchungen an einem mit Torf hergestellten „Nitragin", besonders über das Verhalten der Knöllchenbakterien in diesem Präparat unter dem Einfluß verschiedener Außenfaktoren, führten zu dem Ergebnis, daß dieses Torf-Nitragin dem gewöhnlichen mit Boden hergestellten in seiner Impfwirkung nicht nachsteht. Geimpfte Wicken auf Moorboden lieferten höhere Erträge, obwohl auch die Kontrollpflanzen reichlich mit Knöllchen besetzt waren. Verff. schließen daraus auf eine geringere Aktivität der in dem Boden natürlich vorkommenden Knöllchenbakterien.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Kovrotseva, S., Influence of the type of soil and of moisture on growth and multiplication of nodule bacteria. (Bull. of the State Inst. of Agric. Microbiol. U.S.S.R. Vol. 5. 1933. p. 98—107.) [Russ. m. engl. Zusfassg.]

Um ein möglichst wirksames Leguminosen-Impfpräparat herstellen zu können, wurde der Einfluß der Bodenart, des Wassergehalts und eines Zu-

satzes von Kalk und Mannit zum Boden auf die Lebensdauer und Vermehrung der Knöllchenbakterien untersucht. Bortels (Berlin-Dahlem).

Scheloumova, A., and Protodiakonov, O., The rôle of Azotobacter in the nitrogen nutrition of higher plants under the conditions of Leningrad. (Bull. of the State Inst. of Agric. Microbiol. U.S.S.R. Vol. 5. 1933. p. 118—130.) [Russ. m. engl. Zusfassg.]

Vegetationsversuche, die in Südrußland durchgeführt worden waren, wurden unter den klimatischen Bedingungen Leningrads wiederholt. Ein sandiger podsolierter Boden wurde A. gar nicht, B. mit Tabak und C. mit Mais bepflanzt, und zwar in 4facher Wiederholung: 1. ohne jeden Zusatz, 2. mit wenig und mit viel Kalk, 3. mit Azotobacter und 4. mit Kalk und Azotobacter. In allen Fällen ergaben die Gefäße mit Azotobacter höhere Erträge als die Kontrollen ohne jeden Zusatz und die mit Azotobacter und Kalk höhere als die mit Kalk allein. In den Böden der Gefäße ohne Kalkgabe wurde ein geringer N-Verlust festgestellt, in denen mit Azotobacter und Kalk dagegen ein N-Gewinn, jedoch nur in den bepflanzten Gefäßen. Waren sie unbepflanzt, dann wurde in ihnen ein beträchtlicher N-Verlust beobachtet. Die Ergebnisse stehen im Einklang mit denen, die in Südrußland ermittelt wurden. Bortels (Berlin-Dahlem).

Scheloumova, A., Zaitzeva, E., and Faerman-Nilov, V., Duration of the influence of Azotobacter on the yield of higher plants and on the nitrogen balance. (Bull. of the State Inst. of Agric. Microbiol. U.S.S.R. Vol. 5. 1933. p. 131—141.) [Russ. m. engl. Zusfassg.]

Die im ersten Versuchsjahr beobachtete fördernde Wirkung von Azotobacter auf den Pflanzenertrag konnte auch in den folgenden Jahren wieder festgestellt werden. Darüber hinaus aber zeigte es sich, daß Azotobacter sich hinsichtlich der N-Bilanz des Bodens in den verschiedenen Jahren anscheinend verschieden verhalten kann, zeitweilig als N-Binder und zeitweilig als Zehrer organisch gebundenen Stickstoffs. Bortels (Berlin-Dahlem).

Porchet, B., Etude biologique d'une bactérie du sol fixant l'azote atmosphérique. (Bull. de la Soc. Vaudoise des Scs. Nat. Vol. 58. 1933. No. 232. p. 1—8; No. 233. p. 93—100.)

Beobachtungen an gefärbten Ausstrichen und wässerigen Aufschwemmungen eines aus Erde isolierten Bakteriums verleiten Verf. zu den kühnsten Hypothesen und zur Aufstellung eines pleomorphistischen Entwicklungskreislaufes, der aber offenbar in keiner einzigen seiner vielen Phasen am Einzelobjekt fortlaufend beobachtet und auf diese Weise gesichert worden ist. Die Zellen nehmen unter den verschiedenen Ernährungsbedingungen die verschiedensten, z. T. recht absonderlichen Formen an, in denen sowohl Sporen als auch größere und kleinere „Gonidien" entstehen sollen, und die außerdem in entwicklungsfähige Bruchstücke zerfallen können. Alle diese Fortpflanzungskörper sollen, auf neuen Nährboden verimpft, zu normalen Stäbchen auskeimen. Solange aber derartige Behauptungen nicht durch Beobachtungen an der Einzelzelle einwandfrei bewiesen sind, haben sie für die bakteriologische Wissenschaft keinen Wert. Denn Bilder von Involutionsformen, wie sie Verf. in großer Zahl bringt, sind wohl schon jedem

Bakteriologen begegnet. Es ist aber nicht angängig, aus ihnen allein und aus Untersuchungen an ganzen Bakterienpopulationen anstatt Einzelzellen so weitgehende Schlüsse zu ziehen. Als ebenso leichtfertig mutet es an, wenn Verf. lediglich auf Grund der Tatsache, daß das von ihm beschriebene Bakterium auf N-freiem Agar zu wachsen vermag, annimmt, es könne den Luftstickstoff binden. Dabei erwähnt er selbst, daß es auf N-freiem Kieselgel-Nährboden schon sehr viel schlechter wächst!

Bortels (Berlin-Dahlem).

Vandecaveye, S. C., and Villanueva, B. R. Morphological relationships of soil microbes. (Journ. of Bacter. Vol. 27. 1934. p. 257—269.)

Zu den Untersuchungen wurde Material von 2 Böden verwendet, von denen der eine regelmäßig Stalldung erhalten hatte, während der zweite jahrelang ungedüngt geblieben war. Auf dem ersten Boden war regelmäßig Winterweizen gebaut worden, auf dem zweiten wechselten Brache und Winterweizen ab. Gesiebte Proben beider wurden im Laboratorium bei optimalem Feuchtigkeitsgehalt während eines Zeitraums von 3 Monaten untersucht, es wurden hierbei als Maß für die Aktivität die CO_2-Produktion und als Maß für die Bodenflora kokkenförmige und stäbchenförmige Bakterien nach der direkten Methode bestimmt. Die CO_2-Produktion des gedüngten Bodens betrug etwa das Doppelte der CO_2-Produktion des ungedüngten. Der Gehalt an kokkenförmigen Bakterien war bei dem gedüngten Boden etwa 30%, bei den stäbchenförmigen etwa 20% höher als bei dem ungedüngten. Nach Ablauf der Beobachtungszeit wurden den Bodenproben 1% $CaCO_3$ bzw. 1% $CaCO_3$ + 1% Filtrierpapier zugesetzt. Der Zusatz von $CaCO_3$ bewirkte eine Steigerung des Gehalts an beiden Bakteriengruppen, ohne daß eine stärkere CO_2-Produktion eintrat. Bei den Zusätzen von Filtrierpapier, die unter gleichzeitigem Zusatz von $NaNO_3$ erfolgten, stieg die CO_2-Produktion unmittelbar nach dem Zusatz ganz erheblich an, um nach einiger Zeit wieder auf den alten Wert abzusinken. Im Zusammenhang hiermit war eine Steigerung des Gehalts an stäbchenförmigen Bakterien zu beobachten, die allerdings zahlenmäßig nicht der Steigerung der CO_2-Produktion entsprach. Die kokkenförmigen Bakterien wurden durch den Zusatz nicht beeinflußt. Richter (Kiel).

Muhiddin, A., Nachprüfung der Methode von Vincent zum Colinachweis in Wasser. (Archiv f. Hyg. u. Bakt. Bd. 109. 1933. S. 31—43.)

Die Vincentsche Methode ist bei Verwendung von Peptonfleischwasser zum Nachweis sehr lebensfähiger junger Keime ebenso empfindlich wie die Eijckmannsche Probe. Sie ist aber nicht imstande, Colikeime, die einige Tage im Wasser verweilt haben, mit Bestimmtheit anzuzeigen.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Kliewe, H. und Kindhäuser, J., Über die keimtötende Kraft der Kohlensäure. (Archiv f. Hyg. u. Bakt. Bd. 110. 1933. S. 211—218.)

Sowohl apathogene Wasserbakterien (Vibrionen) als auch pathogene Keime der Coli-Typhus-Gruppe werden von der Kohlensäure zum Absterben gebracht, bei 37° sehr rasch, bei 18—20° nur sehr unvollkommen und langsam. Sporen wurden während der 17 tägigen Beobachtungszeit auch bei 37° nicht abgetötet. Man kann also künstliche und natürliche Mineral-

wässer von nicht einwandfreier Herkunft durch 48 stünd. Aufbewahrung bei 37° von asporogenen Parasiten befreien.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und filtrierbare Vira.

Preston, N. C., The control of club root (finger- and toe) in cauliflowers. (Journ. of the Ministry of Agriculture. Vol. 41. 1934. p. 329—335, 2 figs.)

Die vom Verf. an verschiedenen Stellen in England ausgeführten Versuche mit Sublimat zur Bekämpfung der Kohlhernie bei Blumenkohl zeigten, daß es möglich ist, durch Anwendung von ¼ l 0,05proz. Sublimatlösung je Pflanzloch auf stark mit Kohlhernie befallenen Flächen 70% marktfähige Ware zu erhalten. Gesunde Pflanzen wurden erhalten, wenn die Saatbeete zur Zeit der Aussaat und wenn die Pflanzen etwa 5 cm hoch waren, mit ½ l 0,05proz. Sublimatlösung auf eine etwa 1,5 m lange in Gewächshäusern oder mit 1 l auf die gleich lange Reihe im offenen Saatbeet behandelt wurden.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Tingey, D. C., and Tolman, B., Inheritance of resistance to loose smut in certain wheat crosses. (Journ. Agric. Research. Vol. 48. 1934. p. 631—655.)

Es besteht keine Korrelation zwischen Resistenz gegen Flugbrand (Ustilago tritici [Pers.] Jens.) und verschiedenen morphologischen Merkmalen wie Grannenbildung, Spelzen- und Kornfarbe. Die Spaltungsergebnisse werden unter der Annahme von 3 Resistenzfaktoren zu deuten versucht. Die Infektionen gelingen am besten, wenn die Brandsporen unmittelbar auf die Narbe gebracht werden, wobei es für den Infektionserfolg gleichgültig ist, ob die Blüte noch unreif oder ob sie vollreif ist.

Köhler (Berlin-Dahlem).

Yarwood, C. E., The comparative behavior of four clover-leaf parasites on excised leaves. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 797—806, 3 figs.)

Abgeschnittene Kleeblättchen hielten sich sehr gut auf 10proz. Zuckerlösung. Sie waren auf dieser Lösung anfälliger für Uromyces fallens und Erysiphe polygoni, weniger anfällig für Macrosporium sarcinaeforme und Colletotrichum trifolii als auf 2proz. Zuckerlösung. Blättchen, die am Nachmittag von der Pflanze entfernt wurden, waren anfälliger für Uromyces und Erysiphe und weniger anfällig für Macrosporium und Colletotrichum als Blättchen, die am frühen Morgen abgeschnitten wurden. Dasselbe Verhältnis wurde bei jungen und alten Blättchen beobachtet.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Stroede, W., Untersuchungen über die geographische Verbreitung der physiologischen Formen des Weizenbraunrostes, Puccinia triticina Erikss. in Deutschland. (Arb. d. Biolog. Reichsanstalt. Bd. 21. 1934. S. 115—120.)

Von 45 untersuchten deutschen Braunrostherkünften enthielten 13 Herkünfte 1, 26 2 und 6 Herkünfte 3 Rostrassen. Form XI wurde 17-, Form XIII 9-, Form XIV 33-, Form XV 13-, Form XVI 7-, Form XX 2-, Form XXI 1- und Form XXII 1 mal festgestellt. Der von Radulescu ge-

äußerten Ansicht, daß Form XIII als Hauptrasse Europas anzusehen ist, schließt sich Verf. auf Grund seiner Untersuchungen nicht an.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Pethybridge, G. H., Snapdragon (Antirrhinum) rust. (Journ. of the Ministry of Agriculture. Vol. 41. 1934. p. 336—340.)

Puccinia Antirrhini wurde zum ersten Male 1933 in Englang festgestellt. Inzwischen zeigte sich, daß der Pilz bereits weit im Osten und Süden von England verbreitet ist und daß er bereits Devonshire im Westen erreicht hat. In Frankreich wurde er in 2 Fällen bisher beobachtet. Die weite Verbreitung bringt Verf. zu der Ansicht, daß Puccinia Antirrhini schon länger in England ist, aber bisher noch nicht beobachtet wurde. Da mit den Basidiosporen keine Infektionen erzielt werden konnten, ist anzunehmen, daß ein Zwischenwirt erforderlich ist. Bekämpfung mit Kupferkalkbrühe hatte wenig Erfolg. Fein verteilter Schwefel wirkte, wenn die Temperaturen hoch genug waren, gut.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Wismer, C. A., Inheritance of resistance to bunt and leaf rust in wheat cross Oro × Tenmarq. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 762—779, 3 figs.)

Von Kreuzungen der Weizensorten Oro und Tenmarq wurden die F_2-, F_3 und F_4-Generationen auf Resistenz gegenüber Tilletia levis, die F_4-Generation auf die gegen Puccinia triticina untersucht. Die hohe Anfälligkeit gegen Tilletia ist in diesen Kreuzungen rezessiv. Die F_4-Linien zeigten größere Resistenz als das resistente Elter Oro, das deutet darauf hin, daß das anfällige Elter Tenmarq einen oder mehrere Faktoren für Resistenz hat. Transgressive Spaltung zeigte sich bei der Prüfung auf Rostanfälligkeit. Das zeigt an, daß in beiden Eltern Faktoren für Resistenz gegen Rost vorhanden sind. Keine Beziehung wurde zwischen Steinbrand- und Rostanfälligkeit beobachtet. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Carmin, J., Palestinian plants, their biology, diseases and cryptogamic inhabitants. Bulletin 8. 1. Asphodeus microcarpus Viv. (Acta Societatis Botanicorum Poloniae. Vol. 10. 1933. p. 297.)

Anläßlich der Beschreibung der in ganz Palästina sehr häufigen Pflanze Asphodeus microcarpus erwähnt Verf. auch die Krankheiten derselben. Ein verbreiteter Parasit ist Puccinia asphodeli Moug., dessen Teleutosporenlager und Teleutosporen beschrieben werden. Außerdem wurden noch zwei Krankheiten beobachtet, deren Ursachen aber noch unbekannt blieben. Engel (Berlin).

Willison, R. S., Peach canker investigations. I. Some notes on incidence, contributing factors and control measures. (Scientific Agriculture. Vol. 14. 1933. p. 32—47.)

Verf. hat Studien über die Quellen für das Auftreten einer als Krebs bezeichneten Krankheit der Pfirsichbäume angestellt, die auf Infektion durch einen Pilz, der von verschiedenen Autoren als Valsa leucostoma identifiziert wird, zurückgeführt wird. Die Krankheit wird gekennzeichnet als mehr oder weniger ausdauernde Wunden, die zunächst als eingesunkene, braune, Gummi ausscheidende Flächen erscheinen, unter denen die Rinde späterhin zusammenschrumpft, schwärzlich wird und sich von dem

darunter liegenden Holz und der angrenzenden Rinde loslöst. Der sich bildende Kallus wird wieder infiziert, so daß durch das Absterben des sich immer wieder neu bildenden Kallus Ringe entstehen. Verf. berichtet über seine Ergebnisse an Hand eines genauen Übersichtsplanes über die von ihm untersuchte Obstplantage. Er kommt zu dem Ergebnis, daß 72% der Vorkommen zu etwa gleichen Teilen die Folge von Schädigungen durch die orientalische Pfirsichmotte, von toten Zweigen, von Stümpfen und von Wunden, die nach dem Beschneiden verbleiben, sind. Weitere 24,5% gehen zu 8,4—3,1% auf Abkratzwerkzeuge, beschädigte Gabelungen der Zweige, Winterschäden am Wurzelhals, Wunden nach Entfernung früherer Krebse und Schäden infolge von Verticillium-Welke zurück. Die restlichen 3,5% entfallen auf abgestorbene Knospen und Wunden, die durch Abbrechen oder Zersplittern von Zweigen hervorgerufen werden. Für unterschiedliche Sortenanfälligkeit liegen bislang nur geringe Anzeichen vor. Eine ursächliche Beziehung von Sclerotinia, dem Erreger der Braunfäule zum Krebsauftreten, wie sie oft behauptet wird, lehnt Verf. ab. Dieser Pilz ist insofern indirekt von Wichtigkeit, als er den Krebserregern Eintritt in die Wirtspflanze verschafft. Den Kulturmaßnahmen ist insofern ein gewisser Einfluß einzuräumen, als zur Zeit des Blattabwurfs ausgereifte Bäume weniger dem Krebsbefall ausgesetzt sind. Das Beschneiden führt leichter zu einer solchen, wenn es während der Ruheperiode vorgenommen wird, als wenn es im frühen Frühjahr erfolgt. Von Bekämpfungsmaßnahmen ist das gegen die Braunfäule wirksame Spritzen gegen den Krebs zwecklos. Dagegen ist eine sorgfältige Desinfektion namentlich von großen Wunden wertvoll. Weitere Ratschläge für die Bekämpfung sind am Schluß der Arbeit gegeben.

Braun (Berlin-Dahlem).

Trifonova, V., Die Rotfleckenkrankheit der Pflaume Polystigma rubrum (Pers.) D. C. (Phytopath. Ztschr. Bd. 7. 1934. S. 73—92.)

Nach Beschreibung der Symptome der durch Polystigma rubrum verursachten Rotfleckenkrankheit der Pflaume beschreibt Verf.n ausführlich die Morphologie des Erregers, und zwar die Bildung des Stromas, der Pyknidien und der Perithezien. Alle Versuche, den Pilz künstlich zu kultivieren, schlugen fehl, so daß er als obligater Parasit angesehen werden muß. Infektionsversuche glückten nur mit Askosporen, dagegen nicht mit Pyknosporen. Infektionen durch letztere konnten auch in der Natur nicht beobachtet werden. Stets trat die Krankheit vor der Reife der Pyknidien auf. Die Frage nach der Funktion der Pyknosporen wird ausführlich erörtert. In ihnen ist bestimmt keine Sommerfruchtform des Pilzes zu sehen, vielmehr glaubt Verf.n, daß sie eine sexuelle Fruchtform des Pilzes im Sinne der Pyknidien der Uredineen darstellen. In einem Schlußabschnitt wird auf die Bekämpfungsmöglichkeiten kurz eingegangen. P. rubrum hat einen natürlichen Feind in Gloeosporium polystigmicolum, der den ersteren Pilz in feuchten Jahreszeiten völlig vernichten kann.

Braun (Berlin-Dahlem).

Blank, L. M., Uniformity in pathogenicity and cultural behavior among strains of the cabbage-yellows organism. (Journ. Agr. Research. Vol. 48. 1934. p. 401—410.)

19 aus verschiedenen Gegenden stammende Isolierungen von Fusarium conglutinans, dem Erreger der Yellows genannten Kohl-

krankheit, wurden miteinander verglichen. Sie ließen weder in ihrer Pathogenität, noch in ihrem sonstigen Verhalten Unterschiede erkennen. In Infektionsversuchen erwies sich eine „homozygotisch anfällige“ Kohlrasse gegen alle Isolierungen als in gleichem Grade anfällig, eine andere „homozygotisch resistente“ Rasse als in gleichem Grade resistent. Es konnte sonach keinerlei Spezialisierung nachgewiesen werden und es ist kaum zu befürchten, daß der Erfolg der Resistenzzüchtung künftig etwa durch das Auftauchen von neuen biologischen Rassen in Frage gestellt werden könnte.

Köhler (Berlin-Dahlem).

Ledeboer, Maria S. J., Physiologische onderzoekingen over Ceratostomella ulmi (Schwarz) Buisman. (Physiologische Untersuchungen über Ceratostomella ulmi (Schwarz) Buisman.) Dissertation, Hollandia Drukkerij, Baarn. 88 S. 1934.

Verf.n untersuchte die Physiologie des Erregers der Ulmenkrankheit, weil die Entdeckung neuer Tatsachen auf diesem Gebiete event. Anregungen geben könnte zu einer intensiveren Bekämpfung dieses Schädlings. Bei diesen Versuchen, welche in synthetischen Nährlösungen ausgeführt wurden, wurde der Grad der Entwicklung des Pilzes an Hand der Bestimmungen des Trockengewichtes zu verschiedenen Zeiten festgestellt.

1. Einfluß von Temperatur und Licht. Bei 8½° C schon ziemliches Wachstum, das Optimum liegt bei 25° C, das Maximum bei ± 34° C. Koremienbildung wird durch höhere Temperatur gefördert, ebenso durch direktes Sonnenlicht, hefeartiges Wachstum durch niedere Temperatur.

2. Einfluß des p_H. Das Minimum liegt bei einem p_H von ungefähr 5, das Optimum zwischen 6 und 7, das Maximum ungefähr bei 8. Je nach der angewandten Nährlösung können sich die Grenzen etwas verschieben.

3. Einfluß der Nährstoffe. Für die Untersuchung über den Einfluß verschiedener chemischen Verbindungen auf den Pilzertrag wurde von einer abgeänderten Stammlösung nach Richards Gebrauch gemacht, mit einem p_H von 6,9. Mit Hilfe dieser Stammlösung wurde festgestellt, daß 5% Saccharose als C-Quelle Vorteile hat gegenüber 5% Glukose. Auch andere Zuckerarten sind zu verwerten, dagegen ist Pepton unbrauchbar.

Als N-Verbindungen sind NH_4-Verbindungen zu verwerten, ebenso Asparagin und Pepton, dagegen nicht Harnstoff und KNO_3.

Von den übrigen Elementen wirken günstig auf den Ertrag: K (als 0,1% KH_2PO_4 oder 0,001—0,01% K_2SO_4), Mg (optimale Menge 0,15%), Ca, Zn (0,002—0,02% $ZnSO_4$), weiter stimulierend in kleinen Mengen Hg, Mn und Cu. Fe ist nicht unentbehrlich, Na als NaCl wirkt in 0,1proz. Konzentration schädlich.

Aus den Versuchen konnte eine Möglichkeit zur Bekämpfung mit chemischen Substanzen nicht gewonnen werden, da die Konzentrationon die für Ulmen höchst zulässigen Mengen um ein Bedeutendes übertrafen.

van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Poole, R. F., Sweet potato ring rot caused by Pythium ultimum. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 807—814, 3 figs.)

Die Infektion der Süßkartoffeln mit dem Erreger der Ringfäule Pythium ultimum erfolgt auf dem Felde. Die größeren Verluste treten aber bei der Lagerung ein. Der Pilz wächst auf verschiedenen Nährböden und auch auf Süßkartoffel-Abkochungen. Die Fäule beginnt 36—48 Std. nach dem Eindringen des Pilzes in die Schale. Wenn die Luft mit Feuchtig-

keit gesättigt ist und wenn die Temperatur etwa 20° C beträgt, können bis zu 6 Ringe an einer Kartoffel gebildet werden. Die Infektion kann verhindert werden, wenn die Süßkartoffeln geerntet werden, bevor Feuchtigkeit das Wachstum des Pilzes im Boden begünstigt. Mit Rhizopus nigricans konnte die Ringfäule nicht hervorgerufen werden.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Tucker, J., and Harber, E. W., Seed treatment for potato blackleg. (Scientific Agriculture. Vol. 14. 1933. p. 70—72.)

Auf Grund 5jähriger Berichte über die Beizung von Kartoffeln mit Sublimat und Formalin und über das Auftreten der Schwarzbeinigkeit kommen Verff. zu dem Ergebnis, daß die Behandlung zwar das Auftreten der Schwarzbeinigkeit nicht hemmt, trotzdem aber die Ertragsausfälle vermindert, wobei örtliche Einflüsse sich weitgehend geltend machen. Sie glauben, daß für anerkannte Saat die Kosten der Behandlung sich nicht lohnen. Nur in vereinzelten Fällen mag eine solche zu empfehlen sein.

Braun (Berlin-Dahlem).

Clayton, E. E., Toxin produced by Bacterium tabacum and its relation to host range. (Journ. Agric. Research. Vol. 48. 1934. p. 411—426.)

Bacterium tabacum, der Erreger des „Wildfeuers“ der Tabakpflanze, scheidet ein Toxin aus, das sich durch Filtration des Kultursubstrats durch Kollodiumfilter leicht von den Bakterien trennen läßt. Das Toxin zeigt eine spezifische Wirkung auf Chlorophyllgewebe und bringt anderes, sich entwickelndes Gewebe zum Absterben; es ist noch in hoher Verdünnung wirksam. Von tierischen Exotoxinen unterscheidet es sich außer durch seine Thermostabilität dadurch, daß es keine Proteinreaktion gibt und daß es durch Schwermetallsalze nicht ausgefällt wird. Durch verdünntes Alkali wird es sofort inaktiviert. Zur Erzeugung von typischen Wildfeuerflecken an Blättern genügt es, diesen das bakterienfreie Toxin einzuimpfen. Im Umkreis der Impfstelle bilden sich dann die typischen Läsionen, und zwar nicht nur am Tabak, sondern auch an beliebigen anderen Pflanzen. Impft man regulär mit Bakterien, so bilden sich die Wildfeuerflecken nur beim Tabak, der eigentlichen Wirtspflanze. Die verschiedenen Spezies legen eine unterschiedliche Toxinempfindlichkeit an den Tag. Bei Bohnen erreichten die Läsionen bis zu 1 Zoll Durchmesser, während an Salatblättern nur feine runde Fleckchen auftraten. Der Tabak selbst gehört zu den nur mäßig empfindlichen Arten. Köhler (Berlin-Dahlem).

Thomas, H. E., and Ark, P. A., Nectar and rain in relation to fire blight. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 682—685.)

Verff. beobachteten, daß der Nektar der Obstbaumblüten bei trockener Witterung größere Mengen von Zucker enthält als bei feuchter. Bei Kulturpflanzen zeigte sich, daß bei der Zuckerkonzentration, die dem Zuckergehalt des Nektars bei trockener Witterung entspricht, Bacillus amylovorus nicht wächst. Verff. führen deshalb den höheren Befall der Blüte bei feuchtem Wetter mit B. amylovorus darauf zurück, daß der Zuckergehalt des Nektars dann geringer ist.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Bennett, C. W., Plant-tissue relation of the sugar-beet curly-top virus. (Journ. Agr. Research. Vol. 48. 1934. p. 665.)

Verf. konnte feststellen, daß das Virus des „Curly-top“ der Zuckerrüben

vorzugsweise im Phloëm lokalisiert ist und auch in diesem geleitet wird. Die Leitung erfolgt mit uberraschender Geschwindigkeit. So legt das Virus in den Keimblättern in 2 Min. eine Strecke von 1 Inch (= 2,54 cm) und in den Blättern größerer Pflanzen in 6 Min. eine Strecke von sogar 6 Inchs zurück. Ein Übertritt des Virus von den Tracheen, in die es künstlich eingeführt wurde, in das übrige Gewebe findet nicht statt, die Pflanzen bleiben gesund. In Übertragungsversuchen mit Eutettix tenellus, dem spezifischen Überträger der Krankheit, zeigte sich, daß diese in der Regel nur dann gelingen, wenn man die Tiere vorher an Gewebestückchen saugen läßt, die Phloëm enthalten, da die Tiere beim Saugen das Phloëm anstechen und hauptsächlich daraus ihre Nahrung ziehen. Auf Nicotiana tabacum und N. glauca läßt sich das Virus gleichfalls durch die Eutettix und durch Pfropfung übertragen. In diesen Arten breitet sich das Virus erheblich langsamer aus. Im Gegensatz zu N. tabacum, die deutliche Symptome zeigt, bleibt die Krankheit bei N. glauca latent.

E. Köhler (Berlin-Dahlem).

Thung, T. H., Bestrijding der krul- en kroepoekziekten van tabak. [Bekämpfung der Kräusel- und Runzelkrankheit bei Tabak.] (Mededeeling No. 78 v. Proefstation voor Vorstenl. Tabak, Klaten. 1934. 17 S.)

Die Kräuselkrankheit des Tabaks wird von Insekten aus der Familie der Aleyrodidae (wahrscheinliche Gattung Bemisia) übertragen. Verf. hat nun festgestellt, daß die als „weiße Fliegen“ bekannten Insekten bestimmte Unkräuter für die Eiablage bevorzugen. Sofern solche Unkräuter in der Nähe der Tabakpflanzungen vorkommen, werden die Pflanzen stark von der Kräuselkrankheit heimgesucht. Von diesen Unkräutern seien genannt: Ageratum conysoides, Synedrella nodiflora und Vernonia cinerea. Durch frühzeitige Entfernung dieser Pflanzen aus der Nähe der Tabakpflanzungen läßt sich diese Viruskrankheit sehr wohl bekämpfen. van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Price, W. C., Isolation and study of some yellow strains of Cucumber mosaic. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 743.)

Verf. konnte die Abspaltung abweichender Stämme des Gurkenmosaikvirus nachweisen. Sie ließen sich aus auffallenden, hochgelben Flecken isolieren, die auf den Blättern von Tabakpflanzen nach Beimpfung mit dem gewöhnlichen grünen Gurkenmosaik auftraten. Auch durch Isolierung aus nekrotischen „Primärläsionen“, wie solche beim Einreiben des Virus auf Blättern von Vigna sinensis entstehen, konnten derartige Varianten mit einer eigenartigen Methode gewonnen werden. Das Verhalten der neu aufgetretenen Stämme (Krankheitserscheinungen, Tötungstemperatur, Dauerhaftigkeit des Saftes beim Stehenlassen) wird ausführlich beschrieben.

E. Köhler (Berlin-Dahlem).

Wellmann, F. L., Identification of celery virus 1, the cause of southern celery mosaic. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 695.)

Ein von dem Verf. als Celery 1-Virus beschriebenes Mosaikvirus richtet hauptsächlich in Florida großen Schaden an Selleriekulturen an. Verf. weist nach, daß es sich um ein selbständiges Virus handelt, wiewohl es mit dem „healthy“-Virus der Kartoffel und dem ring spot-Virus des Tabaks starke Ähnlichkeiten aufweist. Übertragungsversuche waren an 23 Spezies

von 8 verschiedenen Familien erfolgreich. Darunter befand sich auch die Monokotyle Commelina nodiflora. Das Virus wird in der Natur durch eine Blattlausart, Aphis gossypii, verbreitet und läßt sich „mechanisch" (durch Einreiben der Blätter und das Nadelstichverfahren) übertragen. Die oberste Verdünnungsgrenze liegt bei 1 : 100 000, die Tötungstemperatur bei 75° (in 10 Min.). X-Körperchen wurden in den Zellen nicht vorgefunden. Das Virus läßt sich durch Berkefeld „W"-Filter filtrieren. Die an den verschiedenen Wirtspflanzen beobachteten Krankheitserscheinungen werden sehr ausführlich geschildert.

E. Köhler (Berlin-Dahlem).

Tierische Schädlinge.

Eckstein, F., Untersuchungen zur Epidemiologie und Bekämpfung von Pyrausta nubilalis Hb. und Platyparea poeciloptera Schr. (Arb. physiol. u. angew. Entom. aus Berlin-Dahlem. Bd. 1 2. 1934 5. S. 109—131.)

Nach Beobachtungen bei Rastatt in Baden wird die Dauer des Falterfluges in einer Nacht bestimmt durch die Geschwindigkeit, mit welcher die Temperatur unter 15° sinkt. Ist die T. höher als 16°, so wird der Flug um so mehr dadurch begünstigt, je größer die Differenz zwischen Taupunkt und T. ist. Die für Rastatt optimale Differenz liegt etwa bei 5,5°. Weitere Mitteilungen betreffen den Einfluß von Windrichtung, Nähe eines Infektionsherdes und Fruchtfolge auf die Stärke des Befalls. Im Kaiserstuhlgebiet ist das Auftreten des Maiszünslers weniger stark, weil die Felder klein sind und ihre Ernterückstände teilweise sorgfältig beseitigt werden. Starke Düngung führt stärkeren Befall herbei. Frühsaat wird stärker befallen als Spätsaat und weit gestellte Pflanzen mehr als eng gestellte. Bekämpfungsversuche mit Bakterien und Pilzen hatten ein negatives Ergebnis.

Die Spargelerträge in jener badischen Gegend haben in den Jahren vor und während diesen Untersuchungen (die 1929 bis 1931 stattfanden) ständig abgenommen, weil die Wirkung widriger klimatischer Verhältnisse zusammentraf mit Massenauftreten der Spargelfliege, die durch das Klima der vorhergehenden Jahre 1924 und 1925 besonders begünstigt worden war. Äußerst wichtig ist die Beseitigung des alten Spargelstrohes im Herbst. Fast in jedem Stengel wurde eine Fliege gefunden. Außerdem ist es möglich, die Eiablage der Fliegen zu verhindern, indem um 3 Stöckchen zusammengenähte große Zeitungen auf den Spargelbeeten aufgestellt werden. Dieses Verfahren ist in der Praxis entstanden; die Fliegen werden dadurch auf ungeschützte Felder abgelenkt; ob es auch bei allgemeiner Anwendung helfen würde, bleibt festzustellen. K. Friederichs.

Holbert, J. R., and Flint, W. P., Chinch Bug resistance in corn — an inherited character. (Journ. econom. Entom. Vol. 27 1. 1934 2. p. 121—124, 3 fig.)

Gewisse Maissorten in Illinois erwiesen sich als widerstandsfähig gegen die Angriffe der Wanze Blissus leucopterus, und diese Widerstandsfähigkeit ist eine erbliche Eigenschaft. Kreuzung dieser Sorten mit anderen, die erwünschte Eigenschaften anderer Art haben, erscheint angezeigt. Es gibt bereits Hybriden, die gegen gewisse Krankheiten, extreme Temperaturen und Trockenheit gefeit sind. K. Friederichs.

Malenotti, E., Esperience contro i nemici del melo. (L'Italia Agricola. Ann. 71 1. 1934 12. p. 21—38, 15 fig.)

Es wird über Experimente und Beobachtungen berichtet, welche bestätigen, daß zwischen dem Abfallen der Blütenblätter des Apfelbaums und dem Beginn des Schlüpfens des Gros der Apfelwickler aus der Puppe ein zeitlicher Zusammenhang besteht. Spritzen mit 0,3% Bleiarsenat hat sich sehr wirksam gegen die Apfelmade erwiesen, wenn es viermal vom 22. März an bis zum 24. Juni erfolgt. Aber auch 5 Spritzungen sind noch rentabel; die Kosten werden reichlich wettgemacht durch den Mehrertrag. Zusatz von Mineralöl verspricht die Wirkung des Kampfes gegen den Apfelwickler noch zu verbessern. Gegen die Wanze Stephanitis pyri hat sich 5% Schwefelkalkbrühe sehr bewährt. Nicht ohne wirtschaftliche Bedeutung ist auch die in den Blättern minierende Raupe von Cemiostoma scitella. K. Friederichs.

Jancke, O., Der Pflaumenbohrer Euvolvulus (Rhynchites) cupreus (L.). (Ztschr. ang. Ent. Bd. 21 1. 1934 6. S. 24—64, 23 Abb.)

Rhynchites cupreus gehört zur Untergattung Euvolvulus; Verf. fand ihn nur an Pflaumen- und Kirschbäumen und bezweifelt die Angaben über sonstige Nahrungspflanzen. Durch den Reifungsfraß des überwinterten Rüßlers werden junge Blätter, Blütenknospen und junge Früchte beschädigt. Die Eiablage in letztere hinein wird beschrieben; der Blattstiel wird vorher fast ganz durchgebissen. Das Weibchen fährt damit 7 Wochen lang fort bis Ende Juli und legt im Durchschnitt 90 Eier ab. Die Larve bohrt sich nach dem Vertrocknen des Fruchtfleisches in den Kern ein. Sie ruht im Hochsommer als Puppe 1—3 cm tief in der Erde, meist 6½ Wochen lang; die jungen Käfer ernähren sich vor der Winterruhe an den Blättern ihrer Wirtsbäume. Der Ausfall an Früchten kann bis zu 44% betragen. Versuche zur Bekämpfung mit chemischen Mitteln befriedigten nicht, man müßte die abgebissenen Früchte, die nach der Eiablage abfallen, auflesen und vernichten, außerdem die Käfer auf besonders gebaute Fangschirme abschütteln. An denselben und anderen Obstbäumen lebt Rh. auratus, über den einiges mitgeteilt wird. K. Friederichs.

Jancke, O., Der Erlenkäfer (Agelastica alni L.) als Kirschschädling. (Arb. phys. u. ang. Entomologie a. Berlin-Dahlem. Bd. 1 1. 1934 3. S. 79—92, 3 Abb.)

Nach Fällung eines Erlengehölzes im Unstruttal 1931 wurden 1933 benachbarte Süßkirschen stark vom Erlenblattkäfer befallen. Die Not hatte die Käfer auf die neue Nährpflanze getrieben. Auch Hainbuchen wurden stark angegriffen. Die Larven nahmen auch Apfellaub an. Eigentliche Fraßpflanzen sind die Kätzchenträger, insbesondere die Betulaceen. Die Durchschnittseizahl betrug im Freien 203, im Labor 366 Stück. Die Entwicklung im Ei folgt bei verschiedenen Temperaturen der Kurve einer Kettenlinie, so auch die der beiden ersten Larvenstadien. Zu weiterer Entwicklung konnten die Larven nicht gebracht werden. Zur Bekämpfung sind neben Arsenmitteln besonders Berührungsgifte auf der Basis von Derris und Pyrethrum geeignet. K. Friederichs.

Kutter, H., Weitere Untersuchungen über Kakothrips robustus Uzel und Contarinia pisi Winn., sowie deren Parasiten, insbesondere Pirene graminea

Hal. (Mitt. Schweiz. Ent. Gesellsch. Bd. 16 1. 1934. Sonderdr. 82 S., 56 Abb.)

Bionomische, insbesondere phänologische Daten über die zwei an Erbsen im St. Gallischen Rheintal schädlichen Insektenarten. Als Parasiten der Gallmücke treten gelegentlich zwei Schlupfwespen, Inostemma boscii und Leptacis tipulae, auf, häufiger der Eiparasit Sactogaster pisi und der Larvenparasit Pirene graminea. Letzterer wird sehr genau beschrieben, und seine Entwicklung und Lebensweise werden dargestellt. Zwei Generationen im Jahre. Diese Erzwespen sind in starker Vermehrung im Rheintal begriffen und werden mit der Zeit jene schädlichen Gallmücken stark vermindern. K. Friederichs.

Gilliatt, F. C., Notes on the lesser budmoth, Recurvaria nanella Hbn. (Scientific Agriculture. Vol. 14. 1934. p. 466—476.)

Recurvaria nanella Hbd. ist eine europäische Spezies, die seit 1903 in Amerika bekannt ist und dort verschiedentlich in Obstplantagen schwerere Schäden verursacht hat. Verf. gibt eine Darstellung ihrer Lebensgeschichte, die weitgehend der von Spilonota ocellana D. S. ähnelt, die wiederholt zu vergleichenden Beobachtungen herangezogen wird. Über die Eier, die 7 Larvenstadien und die Puppen werden genaue Angaben gemacht. Der Schaden zeigt sich an den Knospen und an dem Zusammenspinnen von Blättern und Blüten. Er wird aber meist in der weiteren Entwicklung wieder überwachsen. Braun (Berlin-Dahlem).

Dingler, M., Die Tierwelt des Spargelfeldes. (Ztschr. angew. Entom. Bd. 21 2. 1934 8. S. 291—328, 6 Abb.)

Wiewohl Monokultur, enthalten die untersuchten hessischen Spargelfelder eine reiche Fauna, besonders von Insekten, die allerdings größtenteils aus polyphagen Pflanzenfressern, Zufallsgästen, Düngerinsekten und deren Verfolgern, nur zum kleineren Teil aus besonderen Spargelbewohnern besteht. Großschädlinge sind die Spargelfliege und die Spargelkäfer, einige andere Arten sind gelegentlich schädlich. Die vielen Spinnen erbeuten mehr „nützliche“ als „schädliche“ Insekten. Die Parasiten der Schädlinge sind in zu geringer Zahl vorhanden, um wesentlich nützen zu können. Verschiedene „spargelkäferlarvenfressende“ Rhynchoten werden genannt, darunter Stiretus anchorago. Eine Anzahl Wirbeltiere kommt vor, von denen das Kaninchen stellenweise empfindlichen Schaden stiftet. Zwischen den verschiedenen Tierarten des Spargelfeldes besteht teilweise eine beachtenswerte Wechselwirkung. K. Friederichs.

Oekologie, biologische und chemische Bekämpfung tierischer Schädlinge.

Schleich, E. W., Über Wanderheuschrecken (Ent. Beihefte a. Berlin-Dahlem. Bd. 1. 1934 8. S. 105—107.)

Es werden zahlreiche Beispiele für eine 11jährige Periode der Heuschreckeneinfälle beigebracht. In China sind in 1924 Jahren 173 solche registriert worden, d. h. sie traten durchschnittlich alle 11,1 Jahre auf. Heuschrecken können zufolge ihrer — näher erörterten — klimatischen Ansprüche auf der nördlichen Erdhälfte nur bis zum 55., auf der südlichen bis zum 40. Breitengrad vorkommen. Sie fehlen aber dort in der tropischen Urwaldzone und in ausgesprochenen Wüstengebieten. Wo sie vorkommen, ist periodischer Regenfall ein Merkmal des Klimas.

K. Friederichs.

Thiem, H., Phänographisches zur Massenverbreitung von Schildläusen. (Entom. Beihefte a. Berlin-Dahlem. Bd. 1. Ber. über 5. Wandervers. Deut. Entom. 1934 s. S. 90—95.)

Es werden die Schwierigkeiten des Übertragungsversuches mit Schildläusen erörtert. Damit eine Schildlaus an einer Pflanze zur Massenvermehrung gelangt, muß diese Pflanze dazu „prädisponiert" sein oder, wie Verf. es nennt, sich in einem „coccidophilen" Zustand befinden. Wo der Befall durch Schildläuse eine große Dichte hat, entwickeln sie sich langsamer und bringen weniger Eier hervor. Für die Stärke des Befalls einer Pflanze scheint die Bodenbeschaffenheit einen stark bestimmenden Einfluß zu haben. — Unsere Schildläuse sind hiernach epidemiologisch in der Hauptsache Schwächeparasiten, aus deren Massenauftreten man einen Schluß auf den Gesundheitszustand der betroffenen Pflanze ziehen kann.

K. Friederichs.

De Fluiter, H. J., Over Nygmia phaeorrhoea Donovan, den Bastaard satijnvlinder, en de factoren, welke tijdens de winterrust de getalssterkte van dit insect decimeeren. (Tijdschr. Plantenziekten. Jaarg. 40 1. 1934 1. Sonderdr. 35 p., 1 pl.) [Mit engl. Zusfassg.]

Die Beobachtungen deuten darauf hin, daß milde, feuchte Winter für überwinternden Raupen des Goldafters nachteilig sind. Es finden sich [illegible]ben über die aus den Winternestern hervorkommenden parasitischen [illegible]espen Eupteromalus nidulans und Meteorus ver-[illegible] den Hyperparasiten Monodontomerus aereus. [illegible] als regulierenden Faktors des Massenwechsels [illegible] Das Abschneiden und Vernichten der Nester [illegible] Die Anwendung chemischer Mittel wird dadurch [illegible], daß die Raupen im Frühjahr ihre Nester nicht alle auf einmal, sondern nach und nach verlassen. Die Futterpflanzen und die Anzahl der Häutungen der Raupe werden vermerkt, auch eine Übersicht der in Amerika eingebürgerten Parasiten des Goldafters gegeben. K. Friederichs.

Wilcoxon, F., Hartzell, A., and Youden, W. J., Greenhouse fumigations with naphtalene solutions. (Contrib. Boyce Thompson Institute. Vol. 5 4. 1933. p. 461—469, 3 fig.)

Rote Spinne in Gewächshäusern konnte hinreichend bekämpft werden, indem Naphthalinlösungen zur Verdampfung gebracht wurden. Die Einwirkung dauerte ohne Schaden für die Pflanzen 14—16 Std., obgleich sie solche Pflanzen betraf, die als empfindlich dagegen gelten. Die Luft des Gewächshauses passiert einen Apparat, in dem Naphthalin in Motoröl gelöst ist, und wird dadurch mit Naphthalin gesättigt. Bei weiteren Versuchen wurden Naphthalin und Schwefel gemischt verwendet mit gleichem Erfolg. K. Friederichs.

Hamilton, C. C., Some field tests showing the comparative efficiency of Derris, Pyrethrum and Hellebore powders on different insects. (Journ. econom. Entom. Vol. 27 2. 1934 4. p. 446—453.)

Vergleichende Versuche im Labor mit Derris, Pyrethrum und Helleborus als Insecticiden, wobei der Gehalt an wirksamen Bestandteilen genau bekannt war, hatten folgende Ergebnisse: Derris-Pulver und Pyrethrum-

Pulver wirkten hinreichend gegen Aphis spiraecola, Helleborus nicht. Derris wirkte als Spritzmittel stärker, Pyrethrum stärker bei Verstäubung. Eine Mischung beider übertraf in der Wirkung das einzelne Mittel. Versuche gegen andere Pflanzenläuse ergaben ähnliches. Als Streckmittel war den Giften neutraler Lehm zugesetzt worden. Gute Resultate wurden mit Derris und Pyrethrum auch gegen kleine Cicaden (Erythroneura comes) am Weinstock erzielt, wobei die stärkere Konzentration der Gifte sich als stärker wirksam erwies als die schwächere. Diese Versuche wurden im Weingarten ausgeführt. Auch die Bekämpfung des Blattkäfers Galerucella luteola wurde direkt an den befallenen Bäumen (Ulmen) versucht und hatte guten Erfolg, der zum Teil erst nach 3—6 Tagen eintrat. K. Friederichs.

Jancke, O. und Böhmel, W., Beitrag zur Bekämpfung der Kirschfliege. (Arb. Biol. Reichsanstalt Land- u. Forstwirtsch. Bd. 20_4. 1933_5. S. 443—456.)

Damit die Bekämpfung der Kirschfliege, Rhagoletis cerasi, rechtzeitig einsetzt, empfiehlt sich Feststellung des Ausschlüpfens der Fliegen aus ihrem Puppenlager in der Erde vermittels Rahmen, die mit Gaze bespannt sind und unter den Bäumen ausgelegt werden; die Unterseite muß mit Raupenleim dick bestrichen sein, an dem die Fliegen festkl[illegible] Sie können 77 Tage lang leben; das Schlüpfen begann bei Naumbur[illegible] Mai, Anfang Juni. Die Fliegen sind stark negativ geotropisch; [illegible] nicht auf dargebotene Geruchsreize und wurden durch [illegible] mischte Süßstoffe nicht angelockt, aber zu [illegible] Giftaufnahme veranlaßt. Von Lichtque[illegible] stärksten nicht die hellsten, sondern die weißesten. Geg[illegible] Lichtreizen nahm die Empfänglichkeit von der violetten zur rot[illegible] Seite des Spektrums ab. Zur Bekämpfung wirkte am besten Fluornatrium 1 : 250 mit Zucker oder Melasse, auch Derrisextrakt in gleicher Stärke mit Melasse oder in Stärke 1 : 500 mit Zucker. K. Friederichs.

Gößwald, K., Über die Wirkung von Pyrethrum auf Forstschädlinge. (Verhandl. Dtsch. Ges. ang. Ent. Mitgliedervers. 1933. 1934. S. 49—61.)

Abhängigkeit der Giftwirkung von der Disposition der Raupen, Nachwirkungen im Puppen- und Falterstadium, Mortalität und Absterbezeit nach der Bestäubung in Abhängigkeit von Temperatur und Feuchtigkeit. Die Reizerscheinungen nach der Vergiftung mit Pyrethrum sind die eines Nervenmuskelgiftes. Praktisch ergibt sich: Durch Berücksichtigung der Wetterlage kann der Erfolg um 40—60% erhöht werden. In bezug auf die Temperatur fällt der Bereich des Widerstandsoptimums gegen das Gift mit dem normalen Entwicklungsoptimum zusammen. Die Widerstandsfähigkeit steigt mit der Luftfeuchtigkeit unabhängig davon, ob das diesbezügliche vitale Optimum hoch oder niedrig liegt. Hohe Luftfeuchtigkeit verändert den physiologischen Zustand der Raupen in dem Sinne, daß die Giftwirkung leichter überwunden werden kann. Optimales Bekämpfungswetter für Nonne, Schwammspinner u. a. ist demnach: Temperatur über 24° oder möglichst weit unter 16°, dazu geringe Luftfeuchtigkeit. Jüngere Raupen sind empfindlicher als ältere. K. Friederichs.

Malenotti, E., Il fluosilicato di bario é micidiale anche contro le arvicole. (Il Coltivatore e Giornale Vinic. Italiano. 1933 23. Sonderdr. 6 p.)

Baryumfluorsilikat, wirksam als Insektengift und unschädlich für Vögel, galt als unwirksam gegen Mäuse (Arvicola). Auf Grund von Experimenten im Laboratorium stellt Verf. fest, daß dieses Gift für die Mäuse ebenso wie Zinkphosphor tödlich ist, selbst wenn nur 2% der trockenen Nahrung beigegeben werden, und daß es sich künftig empfiehlt, es immer dann anzuwenden, wenn es gilt, zu vermeiden, daß Geflügel oder andere Vögel dadurch zu Schaden kommen. K. Friederichs.

Tierkrankheiten. Tierparasiten.

Lefebvre, C. L., Penetration and development of the fungus Beauveria Bassiana, in the tissues of the corn borer. (Annals of Botany. Vol. 48. 1934. p. 441.)

Verf. suchte die Frage zu klären, wann und wie der Befall der Raupe von Pyrausta nubilalis (des Maiszünslers oder Gliedwurms), einer im Jahre 1917 nach Nordamerika verschleppten und in Europa heimischen, als Schädling verschiedener landwirtschaftlicher Kulturpflanzen bekannten, Motte vor sich geht. Zu diesem Zweck wurde der Entwicklungsgang auf Mais als Wirtspflanze genau beschrieben. Die Infektion der Raupe durch den Pilz Beauveria Bassiana erfolgt sowohl durch den Verdauungskanal, wie auch durch die Haut. Hier durchdringen Infektionshyphen die dicke sklerotische, chitinhaltige Hautschicht, befallen darunter zunächst die Fettkörper, Drüsengewebe usw., um schließlich den ganzen Körper der Raupe auszuhöhlen. Unter günstigen Bedingungen tritt sodann außen Konidienbildung ein. Der günstigste Augenblick, die Raupen auf ihren Wirtspflanzen mit dem Pilz zu infizieren, scheint der Augenblick des Ausschlüpfens aus den Eiern zu sein. Engel (Berlin).

Himmer, Der Einfluß von Rauchgasen und Abgasen industrieller Anlagen auf die Bienen. (Verhandl. Deut. Ges. ang. Ent. Mitgliedervers. 1933. 1934. S. 115—126.)

In industrieller Umgebung siechen Bienenvölker oft langsam oder plötzlich dahin. Es entstand der Verdacht, daß der Rauch der Fabrikessen Stoffe enthält, die für die Bienen giftig sind. In einigen Fällen gelang es, solche Stoffe in den verendeten Bienen wie im Rauch nachzuweisen. In anderen Fällen gelang dieser Nachweis nicht. Es wird über Käfigversuche berichtet, in denen die schädliche Menge von Schwefelsäure festgestellt wurde; sie liegt bei Zimmertemperatur zwischen 0,01 und 0,005 Vol.-%. Diese Menge wird in den Abgasen nicht erreicht. Die darin enthaltene Salzsäuremenge pflegt noch geringer zu sein. Fluorsilicium schlägt sich alsbald nieder, wirkt daher nur 500—600 m weit. Gefährlicher sind die festen Bestandteile des Rauchs an Ruß, Asche, Metallverbindungen, insbesondere Arsen. Sie lagern sich überall ab, und Bienensterben ist immer dann bemerkt worden, wenn einige Tage trockenes Wetter geherrscht hatte und der Wind aus der Richtung der Essen gekommen war. In den völlig aufgeklärten Fällen handelte es sich immer um Arsenvergiftung. K. Friederichs.

Örösi-Pal, Z., Über die Ernährung der Acarapis-Milben der Honigbienen. (Ent. Beihefte a. Berlin-Dahlem. Bd. 1. 1934 8. S. 135—138.)

Durch Vitalfärbung des Blutes der Bienen (der Hämolymphe) wurde festgestellt, daß die Acarapis-Milben, sowohl A. woodi wie externus, sich davon ernähren. Das eingespritzte Kongorot ging auch in die Milben über, die demnach das Blut gesogen hatten. Man muß sich hiernach fragen, ob die Außenmilben wirklich harmlos sind. K. Friederichs.

Morgenthaler, O., Krankheitserregende und harmlose Arten der Bienenmilbe Acarapis, zugleich ein Beitrag zum Speziesproblem. (Rev. Suisse de Zoologie. T. 41 29. 1934 6. p. 429—446.)

Der Bienenkörper wird von drei Arten von Milben bewohnt. In den Tracheen parasitiert Acarapis woodi (Tracheenmilbe), in der Grube auf dem Rücken zwischen Mesoscutum und Mesoscutellum brütet Acarapis dorsalis (vom Verf. neu so genannt), die demnach als „Rückenmilbe" unterschieden werden kann, und ventral in der Halsfurche haust A. externus, dis „Halsmilbe". Die drei Formen können an gewissen Proportionen (Länge der letzten Tarsenglieder, Abstand der Stigmen voneinander) unterschieden werden. Der strenge Beweis, daß 3 konstante Arten vorliegen, fehlt noch. Verf. weist auf die Bedeutung dieser Milbenformen für das Problem der Rassenbildung der Parasiten im Verhältnis zu der ihrer Wirte hin. K. Friederichs.

Fryg, W., Beitrag zur Kenntnis der sog. „Eischwarzsucht" der Bienenkönigin (Apis mellifica L. ♀). (Landw. Jahrb. Schweiz. 1934. S. 65—94, 32 Abb.)

Die „Eischwarzsucht" der Bienenkönigin wurde bisher als eine Stoffwechselkrankheit angesehen. Sie besteht in einer fortschreitenden Umwandlung des Inhaltes der Eiröhren in gelbbraune bis braunschwarze körnige Massen und die Königin wird dabei steril. Ihr Hinterleib erhält eine auffallende Länge. Verf. beschreibt zunächst die normale Beschaffenheit der Geschlechtsorgane und sodann die Ergebnisse der Untersuchung 3 kranker Bienenköniginnen. Diese enthielten einen Parasiten, der vermutlich zu den Pilzen gehört. Die Infektion beschränkt sich nicht auf die Geschlechtsorgane, sondern auch die Giftblase und der Enddarm werden befallen. Daher wird für die Krankheit der Name Melanose vorgeschlagen.
K. Friederichs.

Maurizio, A., Über die Kalkbrut (Pericystis-Mykose) der Bienen. (Arch. Bienenkde. Jahrg. 15 5. 1934 5. S. 165—192, 12 Abb.)

Durch Infektionsversuche bestätigte sich, daß der Pilz Pericystis alvei der Erreger der Kalkbrut ist, wiewohl man ihn sekundär auch in Waben mit gutartiger Faulbrut, zersetzter Buckelbrut und selbst in Waben mit gesunder, normaler Drohnenbrut findet. Auch mit solcher sekundär auftretender Pericystis konnte Brut infiziert und die Kalkbrut hervorgerufen werden. Es gibt zwei morphologisch und physiologisch verschiedene Formen des Pilzes, die miteinander steril sind. Beide können pathogen wirken. Der Weg der Infektion im Larvenkörper wird geschildert und die Art der Überwinterung der Krankheit. Zur Bekämpfung hat sich Einengen, Warmhalten, Auffüttern der befallenen Völker bewährt. Statistisches über das Auftreten der Krankheit im Laufe des Jahres und die Verbreitung in der Schweiz. K. Friederichs.

Abgeschlossen am 3. Januar 1935.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 91. No. 16|21.
Ausgegeben am 28. Februar 1935.

Über atypische Zellformen bei Bacillus amylobacter.
Ein Beitrag zur Frage des Pleomorphismus der Bakterien.

[Aus dem Botanischen Institut der Universität Münster i. Westf.]
Von **Wilhelm Bucksteeg.**

Mit 14 Abbildungen im Text.

Einleitung.

Nach der Auffassung von Löhnis (1921), Almquist (1925) u. a. stellen die verschiedenen Zellformen einer Bakterienkultur Stufen eines regelmäßigen Entwicklungsganges, des „life cycle", dar. Eine andere Ansicht sieht in der Formenmannigfaltigkeit nicht ein gesetzmäßiges „Nacheinander" von Formen wie etwa beim Generationswechsel mancher Pflanzen und Tiere, sondern nur einen Ausdruck der großen Variabilität der Bakterienzellen; die abweichenden Formen werden zum Teil als nicht mehr weiter entwicklungsfähige „Involutionsformen" angesehen. Nach einer weiteren, von Kuhn vertretenen Auffassung (1931) sind die Formveränderungen durch die Pettenkoferien. Parasiten der Bakterien, bedingt, die selbst einen verwickelten Entwicklungskreislauf besitzen sollen, während jede Bakterienart „dimorph", d. h. in Stäbchen- und in Kokkenform auftritt.

Nach zahlreichen Angaben der Literatur tritt auch Bac. amylobacter nicht nur als typisches Stäbchen, sondern auch in anderer Gestalt auf. So berichtet bereits Winogradsky (1902) über das Auftreten von Kokkenformen in Kulturen dieses Bazillus, die aber nicht mehr entwicklungsfähig sein sollen, und auch nach Haselhoff und Bredemann (1906) sind die kokkenförmigen Zellformen nicht weiter züchtbar. Diese Auffassung erfuhr später jedoch durch Bredemann (1909) eine Revision, der in ausgedehnten Untersuchungen feststellen konnte, daß die häufig auftretenden „kokkenähnlichen Zerfallsprodukte" sowohl aerob als auch anaerob beliebig lange vermehrungsfähig waren. Die „Mikrooidienbildung"[1]) wird nach ihm durch veränderte äußere Bedingungen, z. B. „nicht optimale Temperatur" und „nicht optimale Ernährung" hervorgerufen. Außer diesen Faktoren sind aber nach seiner Ansicht für die Kokkenbildung noch weitere, unbekannte Ursachen verantwortlich zu machen, da die Mikrooidien auch bei Kultur unter günstigen Bedingungen auftraten. Schon makroskopisch sind nach Bredemann diese Kokkenkolonien zu erkennen, die im Gegensatz zu den hoch aufliegenden, etwas schleimigen, normalen Amylobakterkolonien meist klein und durchsichtig sind. Die Entstehung der Mikrooidien geht nach ihm durch sehr reichliche und schnell erfolgende Querteilung der Stäbchen unter weitgehender Änderung im physiologischen

[1]) Der Ausdruck „Mikrooidien" stammt von A. Meyer, der die kurzen, kokkenähnlichen Zerfallsprodukte mit diesem Namen bezeichnet.

Verhalten vor sich; sie riefen keine Gärung mehr hervor, bildeten dagegen noch reichlich Säure.

Ruschmann und Bavendamm (1925) bezweifeln den von Bredemann behaupteten Zusammenhang zwischen Bac. amylobacter und den Kokken, da sie bei Isolierung dieses Bazillus ebenfalls Kokken beobachteten, die sich dann aber als Streptococcus acidi lactici identifizieren ließen.

Sie sagen: „Der Kokkus, der auch bei der von uns durchgeführten Isolierung des Bac. amylobacter auftrat, dessen Entstehung aus diesem aber ebenfalls nicht beobachtet werden konnte, wurde einmal genau diagnostiziert und als in jeder Beziehung identisch mit Streptococcus acidi lactici Gr. gefunden" (S. 357). Und: „Neben Amylobacter und Hefe war noch der Kokkus ziemlich zahlreich vertreten. Zwar kann der Einwand, es handele sich hier nur um die aus Amylobacter entstehenden fortpflanzungsfähigen Mikrooidien, nicht ganz entkräftet werden. Doch würde sich dann die merkwürdige Tatsache ergeben, daß sich diese, wie schon erwähnt, schneller oder langsamer in einen echten Streptococcus acidi l. verwandeln. Es gelang uns aber, den Kokkus auch hier auszumerzen" (S. 359).

Andererseits werden Bredemanns Beobachtungen von Cunningham und Jenkings (1927) bestätigt. Sie erhielten unter Einwirkung kleiner Sauerstoffmengen reichlich Kokkenbildung. Zwei der abgespaltenen Kokkenkulturen, die Pigment produzierten, sollen mit Micrococcus aurantiacus Cohn übereinstimmen, die übrigen 12 von ihnen studierten Kokkenstämme, die keinen Farbstoff bildeten, mit Micrococcus candicans Flügge. Demnach bezieht Cunningham die beiden oben angeführten Kokkenarten in den Entwicklungskreis von Amylobacter ein. Schließlich beschrieb Cunningham (1931) einen komplizierten Entwicklungskreislauf von Bac. amylobacter, in dem neben den oben bereits genannten Formen noch 5 weitere, teils aerobe, teils anaerobe Zelltypen vorkommen sollen, von denen er die meisten mit in der Natur vorkommenden und schon unter anderen Namen beschriebenen Bakterienarten identifizierte. Er schließt sich in der Deutung der von ihm beobachteten Formen der Theorie und Terminologie Löhnis' an und beschreibt Bildung und Keimung von Endosporen, Exosporen, Mikrocysten, Gonidangien, Gonidien, Regenerativkörper, Auftreten von Symplasma und die Entstehung neuer Zellen aus diesem „amorphen" Zustand.

Die Kokkenform ist auch bei anderen Bakterienarten beobachtet worden, z. B. bei Bact. Fraenkeli Hashimoto (1899); bei einem proteusartigen „Luftbazillus" Matzuschita (1902); bei Bac. luteus (Garbowski, 1907); bei Bac. anthracis Lutz (1922); bei Bac. pycnoticus (Grohmann, 1924) u. a. m.

Aus den Ergebnissen der angeführten Untersuchungen ergibt sich die Fragestellung: Handelt es sich bei den verschiedenen Zellformen in einer Reinkultur von Bac. amylobacter um einen Entwicklungskreislauf im Sinne Löhnis' oder um Modifikationen bzw. Dauermodifikationen oder um Degenerationsformen? Die wichtigen Befunde Bredemanns, daß aus einer streng anaeroben Bakterienart eine aerobe Kokkenform entstehen kann, die beliebig lange züchtbar ist, sind für das Problem des Bakterienpleomorphismus wie auch der bakteriologischen Systematik von besonderer Bedeutung.

Aus diesem Grunde schien es mir wünschenswert, die Kenntnis von der Morphologie und Physiologie dieser Kokken zu erweitern und die Bedingungen ihres Entstehens genauer zu untersuchen, um so die weitgehen-

den theoretischen Folgerungen Cunninghams einer näheren Prüfung unterziehen zu können.

Methodik.

Als Nährböden wurden insbesondere Pepton-Fleischextraktagar, Dextrose-Agar, Dextrose-Bouillon[1]), Bouillon, Nährgelatine + Dextrose, Kartoffeln und Erdauszug verwendet. Außer der Herstellung des Bodenextraktes (Löhnis 1920) ist nach den Vorschriften von A. Meyer (1903) verfahren worden. Die Reaktion der Nährböden war schwach alkalisch ($p_H = 7{,}3—7{,}5$).

In dem von Kitt (1927) angegebenen Milzbrei-Nährwasser zur Züchtung von Anaerobiern bei Luftzutritt zeigte Bac. amylobacter gutes Wachstum. Da jedoch die von diesem sonst praktischen Nahrboden gewonnenen Präparate ein unübersichtliches mikroskopisches Bild ergaben, wurde er bei späteren Untersuchungen nicht mehr verwendet.

Zur anaeroben Züchtung wurde eine Anaerobenapparatur nach Art der von A. Meyer und Bredemann (1909) verwendeten benutzt. Es war also möglich, durch verschieden starken Unterdruck mit verschiedenen Sauerstoffmengen zu arbeiten. Der jeweilige Sauerstoffgehalt wurde nach den von Bredemann ausgearbeiteten Tabellen ermittelt. Außerdem wurden Burrische Zwillingsröhrchen und Röhrchen mit Wright-Burrischem Verschluß benutzt, aus denen der Sauerstoff entfernt wurde mittels 3—5 ccm alkalischer Pyrogallollösung, die aus gleichen Teilen einer 15 proz. NaOH und einer 20 proz. Pyrogallollösung bestand. In einigen anderen Versuchen wurde der Sauerstoff durch Wasserstoff verdrängt.

Ritter und Dorner (1932) außern Bedenken gegen die Anwendung dieses Sauerstoffabsorbens', da bei Überschuß von Alkali CO_2-Mangel entsteht, gegen den verschiedene Bakterien, u. a. auch Bac. amylobacter, empfindlich sein sollen. So fanden diese Forscher bei einem Verhältnis von 1 : 4 der 20 proz. Lösungen noch schwaches Wachstum, das bei größeren Mengen NaOH gänzlich sistiert wurde. Aus diesem Grunde wird von ihnen die Natronlauge durch Natriumkarbonat ersetzt. In meinen Versuchen konnte dagegen niemals ein sichtbar schädigender Einfluß eines aus gleichen Teilen einer 20 proz. Pyrogallollösung und einer 15 proz. Kalilauge bestehenden Gemisches festgestellt werden. Selbst ein großer Überschuß an NaOH verhinderte das Wachstum von Amylobacter nicht. Daß die Anwesenheit von NaOH keine Wachstumshemmung von Bac. amylobacter hervorruft, geht auch aus den Versuchen Bredemanns hervor, der NaOH in die Kulturgefäße gab, um „die bei der Atmung gebildete störende CO_2" zu absorbieren.

Die Lebendbeobachtungen bei Sauerstoffzutritt wurden im hängenden Tropfen über der Höhlung eines ausgeschliffenen Objektträgers angestellt. Für die Lebendbeobachtung in sauerstofffreier Atmosphäre wurde eine Anaerobenkammer hergestellt. Diese bestand aus einem Ring, der auf einem Objektträger befestigt war und mit zwei kleinen Gefäßen in Verbindung stand. Von diesen enthielt das eine alkalische Pyrogallollösung, das andere destilliertes Wasser, das sich gleichfalls im Ring unterhalb des hängenden Tropfens befand. Der von hier aus und von dem Wasserbehälter sich entwickelnde Wasserdampfstrom sollte das Austrocknen des hängenden Tropfens einschränken. Mittels eines heizbaren Objekttisches war es zudem möglich, unter den gleichen Temperatur-Bedingungen zu züchten, unter denen die Kulturröhrchen aufbewahrt wurden.

Bei der Züchtung von Einzelzellen im hängenden Tropfen zeigte sich für den anaeroben Bac. amylobacter eine besondere Schwierigkeit.

[1]) Dextrose-Agar und Dextrose-Bouillon werden weiterhin kurz als D-Agar und D-Bouillon bezeichnet.

Alle mit ihm in dieser Richtung hin angestellten Versuche verliefen negativ. Dies ist nicht nur den veränderten Bedingungen im hängenden Tropfen zuzuschreiben, sondern auch der Tatsache, daß von den Amylobacterzellen nur ein ganz geringer Prozentsatz — nach Dorner nur 19—45‰ — wachstumsfähig ist. Auch Bredemann erwähnt, daß Kulturen nach schwacher Impfung oft kein Wachstum zeigen. Dieser Eigenart insbesondere sind die negativen Resultate zuzuschreiben. Vielleicht mißlangen auch daher die Versuche, Einzellkulturen nach Burri (1909) und mittels des Mikromanipulators zu gewinnen.

Da die Versuche im hängenden Tropfen mit Bac. amylobacter nicht gelingen wollten, wurden, um der berechtigten Forderung nach Dauerbeobachtung von lebenden Zellen gerecht zu werden, als für diese Zwecke geeignetere Organismen Bac. megaterium und Bact. coli in den Kreis der Untersuchungen einbezogen. Bei diesen Arten treten nach verschiedenen Angaben (Kuhn 1932, Klieneberger 1930 u. a.) wie auch nach eigenen Beobachtungen häufig abweichende Formen auf.

Herkunft und Isolierung der Amylobacterstämme.

Von Bac. amylobacter gelangten drei als A, B und C bezeichnete Stämme, die im Verlaufe eines halben Jahres isoliert wurden, zur Verwendung. Stamm A und C entstammten dem Erdboden des Botanischen Gartens, Stamm B wurde von einer Kartoffel gewonnen. Bac. megaterium war der Institutssammlung entnommen und Bacterium coli wurde frisch isoliert. Die 3 Stämme von Amylobacter stimmten morphologisch und physiologisch weitgehend miteinander überein. Geringe Unterschiede — Stamm C speicherte kurz nach der Isolierung merklich weniger Iogen als Stamm A und B, Clostridienform war bei C sehr selten — sind vielleicht der verschieden langen Kulturdauer zuzuschreiben. Zur Weiterimpfung wurde nicht erhitztes Ausgangsmaterial verwendet. Nur bei einigen Versuchen wurde dasselbe 5 Min. bei 80° gehalten. Die Bakterien wurden zunächst unter den üblichen Bedingungen kultiviert, worunter die Züchtung auf D-Agar mit Pepton als Stickstoffquelle (p_H = 7,3—7,5) unter vollständigem Sauerstoffentzug bei 30° C zu verstehen ist. Die Abweichung der künstlichen Kulturverhältnisse von denjenigen der freien Natur muß natürlich den Wert der experimentellen Ergebnisse einschränken, wenn hieraus die Frage nach einem natürlichen Entwicklungszyklus beantwortet werden soll. Da jedoch alle bisher in dieser Hinsicht gemachten Beobachtungen auf solche Weise gewonnen sind, mußte zunächst unter Verhältnissen gearbeitet werden, die einen Vergleich mit den Ergebnissen anderer Forscher ermöglichten[1]).

Beschreibung der „typischen" Amylobacterzellen.

Weil die oben genannten Kulturbedingungen sich als die für unsere Stämme günstigsten erwiesen, sollen die unter diesen Verhältnissen zu beobachtenden Merkmale als „typisch" angegeben werden (Abb. 1 und 2).

Makroskopisch zeigten die Kulturen kompakte, weißgraue, oft hochaufliegende und meist glattrandige Kolonien. Ältere Kulturen waren nicht selten rötlich braun gefärbt. Stets wurde Buttersäure und Gas gebildet.

---

[1]) Apparate und Chemikalien wurden dem Institut von der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft zur Verfügung gestellt.

D-Nährgelatine wurde nicht verflüssigt. Auf Pepton-Fleischextraktagar ohne Dextrose war höchstens ein sehr geringes Wachstum auf dem oberen Teile des Schrägagars zu beobachten. D-Bouillon erwies sich als sehr günstig. Auf Kartoffeln wuchsen alle Stämme ebensogut wie auf D-Agar in kompakten, streng umgrenzten Kolonien. Die Angaben Bredemanns (1909) und Dorners (1924), daß D-Agar ein sehr gutes Nährsubstrat darstellt, finden somit eine Bestätigung.

Die Zellgröße der D-Agarkulturen variierte sehr stark, bei jungen Stäbchen von 0,7—1,0 μ für die Breite und 4—10 μ für die Länge. Die in 5—6 Tage alten Kulturen auftretenden Spindelformen erreichten oft sogar eine Breite bis zu 2 μ. Die Größe der Zellen erwies sich als abhängig von der Art des Nährbodens. So waren die Zellen der D-Bouillonkulturen durchschnittlich kleiner und zeigten viel weniger Clostridienformen. Auch Form und Größe der Sporen variierte sehr stark, zwischen 1—1,5 μ für die Breite und für die Länge zwischen 1—2.5 μ[1]). Außer fast runden Sporen wurden in meinen Versuchen ovale Formen gefunden. Nicht selten traten Sporen auf, die noch mit einem Rest der Mutterzelle versehen waren, ein Merkmal, das

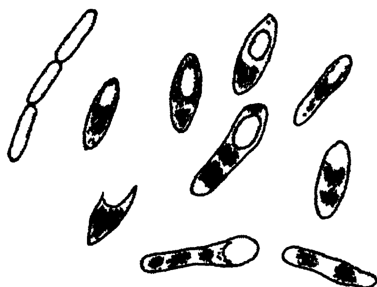


Abb. 1.

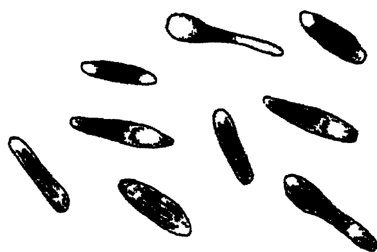


Abb. 2.

Abb. 1. 3 Tage alte Amylobacter-Kultur. D-Agar. (Typische Amylobacter-Zellen.)

Abb. 2. 3 Tage alte Amylobacter-Kultur. D-Bouillon. (Typische Amylobacter-Zellen.)

Winogradsky als charakteristisch für Clostr. Pasteurianum hinstellt. Da Bredemann diesen, auch als „Sporenkapsel" bezeichneten Rest, bei allen Arten unter den verschiedensten Kulturbedingungen beobachten konnte, so ist nach ihm dieses Merkmal nicht zur Artunterscheidung zu verwenden. Junge Stäbchen zeigten eine sehr starke Beweglichkeit, die bei Eintritt der Sporenbildung abnahm.

Junge Keimstäbchen enthielten noch kein, ältere Stäbchen körnig verteiltes Iogen. Bei Spindelformen war meist die ganze Zelle bis auf die Sporenanlage hiermit angefüllt. Außerdem konnte in einigen Fällen in gut ausgebildeten Stäbchen eine Blaufärbung weniger Körnchen in verdünnter Methylenblaulösung bei weiterer Behandlung mit 1 proz. Schwefelsäure erzielt werden, die deshalb als Volutin im Sinne A. Meyers zu deuten sind. Die Variabilität der Reservestoffeinlagerung geht schon aus Befunden Bredemanns hervor, der 1906 bei seinem Clostr. *a*

[1]) Lehmann-Neumann (1924) fand zwischen 0,6—1,3 μ schwankende Breitenmaße, bei 3—8mal größerer Länge. Bredemann, der umfangreiche Messungen an Sporen angestellt hat, fand je nach Art des Nährbodens und der Stämme Werte zwischen 1,02—1,32 μ fur die Breite und 1,8—2,4 μ für die Länge.

Haselhoff et Br. Volutin nachweisen konnte, in späteren Untersuchungen (1909) an derselben Form aber nicht mehr. Gegenüber der gleichmäßigen Färbung mit Methylenblau zeigten ältere Zellen entsprechend ihrer Reservestoffeinlagerung verschieden intensiv gefärbte Bezirke. Glyzerinfuchsin (Lehmann-Neumann 1922) wirkte weniger gut als Phenolerythrosin. Ausgebildete Stäbchen einer 6 Tage alten D-Agarkultur waren grampositiv, während die Zellen — vielleicht tote — älterer Kulturen häufig ganz oder zum Teil durch die Alkoholbehandlung wieder entfärbt wurden.

Da Bredemann (1909) den sich mit Methylenblau färbenden Bezirk in der Sporenanlage für einen Kern hält, schien der Nachweis von Kernsubstanzen mit Hilfe der Feulgenfärbung (1926) wünschenswert[1]). In unseren Versuchen färbten sich junge Zellen, aber auch ältere Stäbchen nur schwach und diffus, niemals distinkt, so daß eine vom Plasma gesonderte Kernsubstanz nicht nachzuweisen war. Bei Zellen mit Sporenanlagen wurde manchmal eine deutlichere Färbung um die bereits etwas weiter ausgebildete Spore festgestellt. Mit Pietschmann und Rippel möchte ich die intensiver gefärbten Bezirke um die Spore lediglich als Zeichen einer größeren Plasmadichte ansehen. Innerhalb der ausgereiften Spore konnte weder eine diffuse noch eine distinkte Färbung erzielt werden.

Um einen Vergleich der in der Literatur beschriebenen Formen mit den von mir isolierten Stämmen anstellen zu können, mußte das Verhalten dieser Bakterienformen verschiedenen Kohlenstoffquellen gegenüber geprüft werden. Es wurden von meinen Stämmen in Gegenwart von Pepton stets Dextrose, Lävulose, Saccharose und Galaktose, weniger gut und nicht immer dagegen Inulin und Dextrin vergoren. Nicht angegriffen wurde Laktose, Arabinose, Stärke, Gummi, Mannit, Dulzit, Glyzerin, Salizin und Ca-laktat. Wird der Stickstoff in Form von $(NH_4)_2SO_4$ als einzige Stickstoffquelle gegeben, so werden von all diesen Stoffen nur Dextrose, Lävulose und manchmal auch Saccharose vergoren. Das Ergebnis dieser Versuche erwies sich oft als abhängig von der Impfmenge.

In der Literatur werden von den einzelnen Autoren die untersuchten Stämme des Buttersäurebazillus unter den verschiedensten Namen beschrieben, ohne daß über die im einzelnen Falle bearbeiteten Stämme völlige Klarheit herrschte. Nachdem schon Graßberger und Schattenfroh (1904) mitteilten, daß verschiedene Typen der Buttersäuregruppe ineinander überführbar sind, ist es das Verdienst Bredemanns (1909), gezeigt zu haben, daß die Unterscheidungsmerkmale zwischen den bis dahin gesondert aufgeführten Arten nicht konstant sind und folglich die ganze Gruppe wahrscheinlich nur eine Art darstellt, die er Bac. amylobacter A. M. et Bredemann nannte. Der Versuch, unsere isolierten Stämme nach Bergey (1930) zu identifizieren, machte Schwierigkeiten, weil das Hauptunterscheidungsmerkmal, das Anschwellen der Stäbchen bei der Sporenbildung, nach unseren Versuchen kein festes Merkmal darstellt.

Da jedoch die oben genannten morphologischen und physiologischen Merkmale, wie Form und Größe der vegetativen Zellen und der Sporen, Auftreten der charakteristischen amyloiden Substanz, Bildung von Gas und Buttersäure und der Sporenbildungsprozeß ganz analog denjenigen

[1]) Pietschmann und Rippel (1932) führten Untersuchungen mit dieser Nuklealfärbung an verschiedenen Bakterien aus. Sie halten die diffuse Verteilung der nuklealpositiven Substanz bei Bac. mycoides und den anderen untersuchten Bakterien für den „Normalzustand". Menge und Verteilungsart der nuklealpositiven Substanz sind nach ihrer Angabe abhängig vom Nährboden. Lithiumchlorid und Magnesiumsulfat sollen eine Entmischung dieser Substanz herbeiführen.

des von Bredemann (1909) beschriebenen Bac. amylobacter sind, nennen wir die isolierten Stämme Bac. amylobacter A. M. et Bredemann[1]).

Svarts (1932) übt Kritik an der Systematik Bredemanns. Sie teilt seine Art in zwei Gruppen auf und zwar auf Grund der Art der Reservestoffspeicherung, des Gärvermögens und der Agglutinationsreaktion. Die Organismen des ersten Typus sind nach ihr dadurch gekennzeichnet, daß sie bei einer bestimmten Reaktion des Substrates „jodophile Substanz" einlagern und die Fähigkeit besitzen, Glukose, Lävulose, Galaktose, Mannose, Maltose, Arabinose, Saccharose, Salizin, Laktose und Stärke, weniger gut auch Glyzerin zu vergären[2]). Zu diesem Typus gehört der von ihr mit Clostr. butyricum jodophilum bezeichnete Organismus. Der zweite Typus, dem z. B. Clostr. Pasteurianum angehört und der von der ersten Gruppe scharf zu scheiden ist, vermag trotz geeigneten ph-Wertes des Nährbodens nicht regelmäßig „jodophile Substanz" einzulagern und weder Saccharose noch Salizin und „mitunter" auch keine Stärke zu vergären. — Nach der Bildung jodophiler Substanz gehörten unsere isolierten Bazillen in die erste Gruppe. Die feste Eingliederung bietet aber trotzdem Schwierigkeiten. Nach unseren Beobachtungen ist nämlich die Fähigkeit der regelmäßigen Reservestoffeinlagerung kein konstantes Merkmal, was ja für die Richtigkeit der Svartsschen Einteilung Voraussetzung wäre. Ebenso ist nach den Ergebnissen der mit den verschiedensten Kohlenhydraten angestellten Gärversuche die Fähigkeit, einen bestimmten Stoff zu vergären, zu unsicher, um diese Eigenschaft als Unterscheidungsmerkmal zu benutzen, wie schon früher Bredemann in umfangreichen Untersuchungen feststellen mußte. Bezüglich der Fähigkeit der Vergärung der verschiedensten Kohlenstoffquellen kommen meine Stämme dem Winogradskyschen Stamm Clostr. Pasteurianum am nächsten. Sie unterscheiden sich von diesem nur insofern, als letztere nach den Angaben Winogradskys keine Lävulose in Gegenwart von $(NH_4)_2SO_4$ vergärt, dagegen Inulin. Der mit Clostr. Past. bestehenden Ähnlichkeit nach wären die von mir verwandten Bakterienformen in die zweite Gruppe der Svartsschen Einteilung einzuordnen, während, wie oben gezeigt, sie nach der Art ihrer Reservestoffspeicherung der ersten Gruppe zuzuordnen wären. Dieser Umstand zeigt schon die Schwierigkeit der Svartsschen Systematik.

„Atypische" Zellformen.

Den oben erwähnten, als typisch bezeichneten Zellarten — Stäbchen bei jungen Zellen und die kurz vor oder bei der Sporenbildung auftretenden Spindel oder spindelähnlichen Formen — können alle abweichend gestalteten Bakterientypen, die in Amylobacterkulturen auftreten können, als „atypische" Formen gegenübergestellt werden. Solche atypischen Zellen, wie kokkoide Gebilde, schwach lichtbrechende Stäbchen, keulenförmige Gebilde, unregelmäßig geformte Zellen usw. konnten in unseren Kulturen häufig beobachtet werden (Abb. 3, 4, 5, 6 und 7). Als häufigste Form wurden kokkoide Gebilde gefunden, die Bredemanns Mikrooidien, Cunninghams Kokken und Kuhns C-Formen entsprachen. Junge Kulturen zeigten solche abnormen Zellen verhältnismäßig selten, während ihre Zahl mit dem Alter der Kultur zunahm. Man kann daher wohl sagen: je älter die Kulturen, um so mehr Zellen, die sich vom „normalen" Typus unterschieden.

Um Reinkulturen kokkenförmiger Zellen aus Amylobacterkulturen zu gewinnen, wurde zunächst gemäß den Vorschriften Bredemanns gearbeitet. Dieser Autor erhielt durch einfaches Plattengießen in ca. 75% aller Fälle Kokkenkolonien, wenn er seine Kulturen bei 1 mg O_2/l

---

[1]) Winogradsky (1926) hält allerdings den Terminus „Bac. amylobacter" für nicht eindeutig genug.

[2]) Nach brieflicher Mitteilung verwandte N. Svarts für ihre Kulturen Pepton als Stickstoffquelle.

und einer Temperatur von 28° aufbewahrte. Die mit allen Stämmen in mehrfacher Wiederholung angestellten Versuche, durch wiederholten Plattenguß zu Kokkenreinkulturen zu gelangen, führten zu keinem Erfolg.

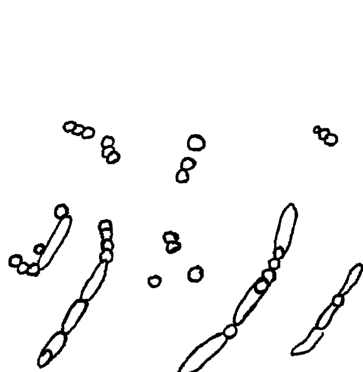


Abb. 3.

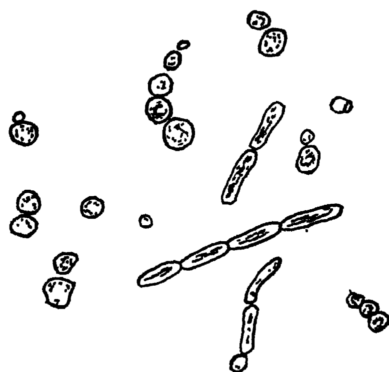


Abb. 4.

Abb. 3. 10 Tage alte Amylobacter-Kultur. D-Agar. („Kokkenbildung.")
Abb. 4. 2 Tage alte Amylobacter-Kultur. Milz-Nährboden. (Große kugelige Zellen.)

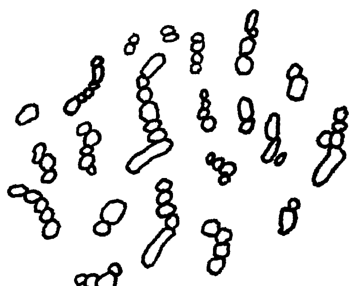


Abb. 5.



Abb. 6.

Abb. 5. 4 Wochen alte Amylobacter-Kultur. D-Agar. (Kokkenförmige Zellen.)
Abb. 6. 3 Tage alte Amylobacter-Kultur. D-Agar. (Große, kugelige Zellformen.)

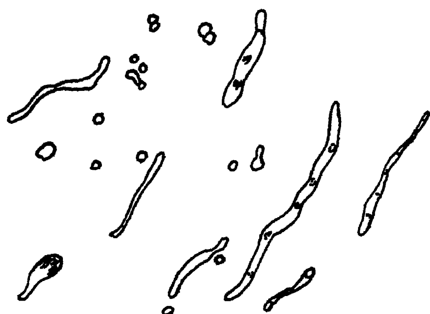


Abb. 7. 4 Wochen alte Amylobacter-Kultur. D-Bouillon. (Kokkenförmige Zellen und Fadenformen.)

Die Kulturen enthielten neben den kokkoiden Gebilden noch normale, mit Jod blau färbbare Stäbchen. Normale Zellen traten selbst in solchen Kulturen auf, die aus Impfmaterial stammten, das aus zahlreichen kokkenförmigen Zellen bestand. Wo kokkenähnliche Zellformen überhaupt auftraten, waren sie in großer Anzahl vorhanden.

Bei genauer Durchsicht war es meist leicht zu erkennen, daß diese kokkoiden Zellen durch Abschnürung entstanden waren. Oft befanden

sich die runden Zellen inmitten von Ketten normaler Stäbchen (Abb. 3). Nicht selten konnten auch streptokokkenförmige Bilder beobachtet werden (Abb. 5). In anderen Kulturen war es mitunter schwerer zu entscheiden, ob sich die runden Zellen durch rasche Querteilung bei gleichzeitiger Abrundung oder endogen gebildet hatten. Nicht selten zeigten einige Kolonien Stäbchen mit hintereinander liegenden, mehr oder weniger lichtbrechenden Kügelchen. Diese kugeligen Einschlüsse waren in vielen Fällen allein noch erkennbar, während die restliche Zellmasse nur noch schwach sichtbar war.

Vom Auftreten ahnlicher Einschlüsse bei Bac. felsineus berichten Ruschmann und Bavendam (1925). Nach ihrer Ansicht lassen sich diese Gebilde von Kokken schwer unterscheiden. Die von diesen Autoren angestellten mikrochemischen Reaktionen auf Fett und Volutin verliefen negativ. Kuhn (1931) hält das Auftreten kugeliger Einschlüsse für den Beginn der Kokkenbildung. Die Kokken „wachsen aus den Stabchen regellos heraus" (S. 121). Nach seiner Ansicht entstehen die Kokken (C-Formen) also endogen.

In anderen Fällen war die Membran ganz aufgelöst, und die kugeligen Einschlüsse waren von den übrigen kokkoiden Gebilden kaum zu unterscheiden. Solche Bilder stimmen mit den von Cunningham (1931) erwähnten und in Mikrophotogrammen wiedergegebenen Bildern überein. Er bezeichnet diese Gebilde z. T. als Regenerativkörper und Gonidien, ohne jedoch irgendwelchen Beweis für die Berechtigung dieser Bezeichnung beigebracht zu haben.

Eine zweite Möglichkeit zur Gewinnung reiner Kokkenkulturen wurde durch Cunninghams Beobachtung eröffnet. Dieser Forscher konnte Kokken willkürlich durch „unvollständige" Anaerobiose züchten (quantitative Angaben über die Sauerstoffmengen fehlen). Unsere Versuche über das Verhalten des Bac. amylobacter gegenüber Sauerstoff ergaben, daß 0 bis ca. 1 mg Sauerstoff pro Liter für das Wachstum unserer Stämme am günstigsten war, wie schon Bredemann (1909) beobachtete. Als obere Grenze der Sauerstofftension für die Entwicklung dieses Bacillus wurde eine Sauerstoffmenge von ca. 30—35 mg O_2/Liter festgestellt. Die bei dieser Sauerstoffmenge gehaltenen Kulturen unterschieden sich in unseren Versuchen von den anaerob gezüchteten Vergleichsröhrchen durch eine Menge atypischer Formen. Diese bestanden meist aus kokkoiden Zellformen und großen kugeligen Zellen mit Inhaltskörpern. Bei Anwendung größerer Mengen Sauerstoff blieben die Röhrchen fast immer steril. In ganz wenigen Fällen fand noch Wachstum im Kondenswasser statt. In weiteren Versuchsreihen wurden von kokkenreichen Kulturen D-Agar-Röhrchen beimpft, die bei ca. 50 und 100 mg O_2/l aufbewahrt blieben. Ein Teil der Parallelkulturen wurde streng anaerob, der andere bei vollständigem Luftzutritt gehalten. Zunächst zeigten nur die anaerob gezüchteten Kulturen Wachstum; alle anderen Röhrchen blieben steril. Während diese Methode bei den Stämmen A und C zu keinem Ergebnis führte, verhielt sich Stamm B etwas anders. Auch hier zeigten die unter anaeroben Bedingungen gehaltenen Röhrchen gutes Wachstum. Außerdem aber ließ sich bei einigen der bei 50 und 100 mg O_2/l gehaltenen Kulturen ebenfalls Wachstum, wenn auch in viel geringerem Grade, feststellen. Es waren nicht mehr die typisch hochaufliegenden Amylobacterkolonien, sondern man beobachtete einen dünnen Belag auf dem Agar. In dem gleichen Maße, wie sich das makroskopische Bild verändert hatte, hatte sich auch das mikroskopische Aussehen verändert. Neben einer Menge kokkoider Formen fand man verkümmerte Stäbchen mit

schwacher Lichtbrechung. Diese Kümmerformen enthielten kein Iogen und waren im Gegensatz zu normalen Stäbchen junger Kulturen gramnegativ. In einer weiteren Versuchsreihe ließ sich dieses Ergebnis bestätigen. Röhrchen, die von diesen Kulturen beimpft und 1. anaerob, 2. bei verminderter Sauerstoffspannung (100 mg O_2/l) und 3. aerob aufbewahrt wurden, zeigten z. T. nach 6 Tagen Wachstum, blieben teilweise aber auch steril. Die weißgrauen, zarten Kolonien bestanden aus Kokken; nur genauere Durchsicht des Präparates ließ noch einige Kümmerstäbchen und andere atypische Zellen erkennen. Die kokkenförmigen Zellen variierten stark in ihrer Größe. Selbst in einem Kettenverbande waren die Zellen verschieden groß. Diese Kokken ließen sich zunächst auf D-Agar sowohl aerob als auch anaerob wieder weiter züchten und zeigten gutes Wachstum. Je öfter aber die Kulturen übergeimpft wurden, desto schwächer wurde das Wachstum, bis es zuletzt makroskopisch nur noch eben sichtbar war. Die Kokken nahmen an Größe und Lichtbrechungsvermögen ab. Nach ungefähr 5—6 Überimpfungen war das Wachstum so kümmerlich, daß die folgenden Versuche überhaupt ohne Erfolg blieben. Dieses Resultat konnte durch Anwendung von verschiedenen Nährböden nicht gebessert werden. Auch dann, wenn von der ca. 4 Monate alten ersten Kokkenkultur abgeimpft wurde, blieben die Kulturen selbst nach Wochen steril. Die Züchtung dieser Kulturen im Vakuum und bei verminderter Sauerstoffspannung blieb ebenfalls ohne Erfolg.

Es ist somit gelungen, durch Einwirkung schädlicher Mengen Sauerstoff (50—100 mg/l) bei einem der drei untersuchten Amylobacterstämme Kokken zu isolieren. Dieses Resultat läßt erkennen, daß, wie in der Neigung, Kokken abzuspalten, so auch bezüglich der Entwicklungsfähigkeit dieser Kokken bei den einzelnen Amylobacterstämmen Unterschiede bestehen. Die verschieden starke Neigung zur Kokkenabspaltung bei den einzelnen Amylobacterstämmen ist auch durch Bredemanns Beobachtung erwiesen. Die isolierten Kokken lassen sich nur teilweise und dann auch nur in begrenztem Maße weiterkultivieren.

Bei Isolierung und Beobachtung der kokkoiden Zellen aller 3 Stämme im hängenden Tropfen in einer Aeroben- und Anaerobenkammer konnte niemals Wachstum beobachtet werden. Manche Zellen verloren im Laufe der Zeit an Lichtbrechungsvermögen. Ebenfalls führten die zahlreichen Versuche, die Entstehung dieser kokkenförmigen Zellen im hängenden Tropfen zu beobachten, zu keinem Erfolg. Soweit diese Ergebnisse Schlüsse erlauben, muß hiernach angenommen werden, daß diese kokkoiden Gebilde weder in sauerstoffhaltiger noch in sauerstofffreier Atmosphäre entwicklungsfähig sind.

Mit dieser Annahme steht scheinbar die Beobachtung einer begrenzten Weiterentwicklung der durch schädliche Sauerstoffmengen gewonnenen kokkoiden Formen des gleichen Stammes in Widerspruch. Hierfür scheint sich aber folgende Erklärung zu bieten: Nach dem zahlenmäßig starken Auftreten der kokkoiden Gebilde bei Sauerstoffzutritt und in alternden Kulturen, d. h. unter für diesen Organismus ungünstigen Bedingungen, wie auch nach der festgestellten geringen Entwicklungsfähigkeit, sind vielleicht in den Kokken Zellen herabgesetzter Vitalität zu sehen. Es scheint dann verständlich, daß diese bereits geschwächten Zellen den ungünstigen Verhältnissen des hängenden Tropfens nicht mehr gewachsen sind und zugrunde gehen. In den Fällen aber, wo Kokken sich noch weiter züchten ließen,

standen diese bei der zur Anwendung gelangten Kulturart (Kulturröhrchen) an sich schon unter günstigeren Bedingungen als der hängende Tropfen sie bietet. Auch ließe sich die begrenzte Weiterentwicklungsfähigkeit der Kokken in diesen Fällen durch die Annahme erklären, daß sie weniger weitgehend degeneriert waren.

Die durch Einwirkung geringer Sauerstoffmengen isolierten kokkenförmigen Zellen zeigten nach der zweiten Überimpfung folgendes Verhalten: Auf D-Agar bildeten sie weiße, zarte Kolonien; sie waren meist klein und flachaufliegend, ganz analog den von Bredemann beschriebenen. Die Größe der Kokken war außerordentlich verschieden. Man beobachtete Zellen von 0,8—1,7 μ Durchmesser, die einzeln und in Verbänden zusammenlagen und nicht selten unregelmäßige Form besaßen. Die Kokken nahmen leicht Anilinfarbstoffe auf, waren grampositiv und wurden durch 5 Min. langes Erhitzen auf 80° C getötet. Über die Hitzeresistenz liegen bei Bredemann keine Angaben vor. Nach Cunninghamm werden die Kokken durch 10 Min. lange Erhitzung auf 60° C getötet.

Außerdem wurde das morphologische und physiologische Verhalten der Kokken nach 24 und 48 Std. auf Fleischextrakt-Pepton-Agar, Fleischextrakt-Pepton-Bouillon, Nährgelatine, D-Agar, D-Bouillon, Biomalzagar, Blutagar[1]), Lackmusmolke, Maltose, Rhamnose, Saccharose, Arabinose, Xylose und Mannit[2]) geprüft. Auf den meisten Nährböden war nach 24 Std. geringes Wachstum zu beobachten, das z. T. nach 48 Std. zugenommen hatte. Wo Wachstum festzustellen war, bestanden die Kolonien aus Kokken; diese lagen teils einzeln, teils in Gruppen oder Ketten. Die Größe variierte stark, war aber auch von der Art des Nährbodens abhängig. Eine Sonderstellung nahm Blutagar ein. Hier wurde ein relativ gutes Wachstum gefunden. Von diesem Nährboden gelangen auch noch Weiterimpfungen[3]). Aber auf die Dauer blieben auch hier Weiterzüchtungsversuche ohne Erfolg. In Lackmusmolke fand Farbumschlag statt, der auf Säurebildung hinweist. In den verschiedensten Zuckernährlösungen blieb das Wachstum aus.

Die Versuche haben somit ergeben, daß:

1. Kolonien, die nur aus Kokken bestanden, unter Einwirkung von ca. 50—100 mg O_2/l bei einem der drei Stämme entstehen,

---

[1]) Der Blutagar bestand aus 1% Pepton, 1% Liebigs Fleischextrakt, 0,3% NaCl, 3% Agar und ca. 10% Blut.

[2]) Die verschiedenen Zuckernährböden enthielten außer 1/2 g der betreffenden Zuckerart bzw. des Alkohols in 1000 g H_2O: 0,5 g Na_2HPO_4, 1,0 g $(NH_4)_2SO_4$, 2 g Natriumzitrat, 5 g NaCl und 0,5 g Pepton. Dem Nährsubstrat wurden einige Tropfen Methylrot zugegeben.

[3]) Das verhältnismäßig gute Wachstum der Kokken auf Blutagar ließ vermuten, daß sich vielleicht unter ganz bestimmten Kulturbedingungen die kokkoiden Gebilde unbeschrankt vermehren. Nach Abschluß der Hauptversuche wurden deshalb Untersuchungen mit neu isolierten Amylobacter-Stämmen unter Beibehaltung der fruher benutzten Methodik angestellt. Neben den gebrauchlichen Nährböden wie D-Agar, D-Bouillon wurden auch solche verwandt, wie sie besonders in der medizinischen Bakteriologie benutzt werden, wie Röstblut-Agar, Blut-Agar, Drigalsky-Nährboden und Malachitgrun-Agar nach Lentz In zahlreichen Versuchen konnten unter Einwirkung von 50 mg O_2/Liter, aber auch bei geringerer Sauerstoffzufuhr nur in vier Fällen Kokkenkolonien beobachtet werden, und zwar 2mal auf Laktose-Agar und je 1mal auf Röstblut-Agar und D-Agar. Diese Kokken, die sowohl mikroskopisch wie makroskopisch mit den in früheren Versuchen erhaltenen ubereinstimmten, ließen sich trotz aller Vorsichtsmaßregeln und Variation der Bedingungen nicht weiterzüchten. Dieses Ergebnis bestätigt somit die aus den früheren Versuchen gewonnenen Erfahrungen. Die einmal beobachtete begrenzte Weiterzüchtbarkeit der Kokken auf Blut-Agar ist daher wohl nur als Sonderfall zu bewerten.

2. diesen kokkoiden Gebilden keine unbegrenzte Entwicklungsfähigkeit zukommt,
3. die im hängenden Tropfen sowohl unter anaeroben als auch aeroben Bedingungen beobachteten Kokken keine Weiterentwicklung zeigen.

Der Stamm C unterschied sich von den übrigen Stämmen dadurch, daß hier neben den übrigen atypischen Zellformen in großem Maße größere rundliche Zellen mit Inhaltskörpern auftraten, wie sie auch von Cunningham beschrieben sind (Abb. 4 u. 6). Sie entsprachen den von ihm als Gonidangien bzw. Gonidien gedeuteten Formen. Entsprechend der Menge der kokkenähnlichen Zellen in manchen Kulturen des Stammes B konnte man die großen rundlichen Zellen in Kulturen des Stammes C finden. Besonders im Kondenswasser der D-Agarröhrchen waren diese kugeligen Zellen sehr reichlich vorhanden. Durch Variation der Außenbedingungen konnten die großen kugeligen Zellen nicht willkürlich erhalten und vorhandene nicht sichtbar vermehrt werden. Diese atypischen Zellen, die oft einen Durchmesser bis zu 3,5 μ besaßen, schlossen in ihrem Innern Körnchen ein, die sich mit Methylenblau intensiv färbten. Jogen und Volutin wurde von ihnen nicht gespeichert. Die Prüfung des Kondenswassers ergab eine deutlich saure Reaktion. Deshalb lag der Gedanke nahe, daß diese runden Gebilde durch Veränderung des p_H-Wertes des Nährsubstrates entstanden seien. Da jedoch auch bei Zusatz von 1% Calziumkarbonat solche Zellformen auftraten, kann die saure Reaktion nicht als Ursache ihrer Entstehung angesehen werden.

Alle anderen oben genannten atypischen Formen traten besonders in alten Kulturen auf. Von all' den Zelltypen zeigen die langen Fäden und die keulenförmigen Zellen z. T. Jogen, während die Kümmerstäbchen sich in unseren Versuchen mit Jod nicht blau färbten. Mit Methylenblau ließen sich die Kümmerformen ebenfalls schlecht färben, während die anderen Formen diesen Farbstoff gut aufnahmen. Bei verschiedener Behandlung gleichen Bakterienmaterials ergaben sich oft verschiedene Bilder. In solchen gefärbten Präparaten konnten Gebilde beobachtet werden, die im lebenden Präparat der gleichen Kultur niemals gefunden wurden und deshalb als Kunstprodukte zu gelten haben. Nicht selten zeigten die mit Anilinfarben behandelten Präparate Bilder, ähnlich den von Cunningham wiedergegebenen und als Regenerativkörper gedeuteten Formen. Stapp und Zycha (1932) zeigen an Hand von Mikrophotogrammen des Bac. mycoides sehr schön, wie unterschiedlich beispielsweise ein verschieden gefärbtes Präparat aussehen kann. Sie betonen ebenfalls den eingeschränkten Wert gefärbter Präparate für die Beurteilung von Bakterienumwandlungen.

Die Lebendbeobachtungen, die mit diesen veränderten Zellformen angestellt wurden, ergaben keine Anhaltspunkte für ihr Weiterentwicklungsvermögen.

Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration, Temperatur und chemischer Agenzien auf die Bakterienformen.

Zum weiteren Studium der Abhängigkeit der Entstehung atypischer Formen wurde in vergleichenden Kulturen der Einfluß verschiedener Außenbedingungen geprüft.

a) Wasserstoffionenkonzentration.

Zunächst sollte festgestellt werden, ob zwischen der Reaktion des Nährbodens und dem Auftreten der großen kugeligen Zellgebilde Beziehungen bestanden. Zu diesem Zweck wurde von verschieden alten Kulturen eine Anzahl D-Agar und D-Bouillon-Röhrchen mit den p_H-Werten 7,5; 7,0; 6,5; 6,0; 5,4; 5,0; 4,4 und 3,5 (angesäuert mit HCl) beimpft. Nach 6 Tagen zeigten alle Röhrchen, außer denen mit einem p_H-Wert von 4,4 und 3,5 makroskopisch sichtbares Wachstum. Der mikroskopische Befund war folgender. Bei einem p_H-Wert von 7,0—6,5 waren Stäbchen, Clostridien mit Sporenanlagen und reichliche Jogenbildung zu beobachten. Erst bei $p_H = 6,0$ wird die Iogeneinlagerung weniger intensiv, dagegen ist das Wachstum im wesentlichen dasselbe wie bei den höheren p_H-Werten. Merklich schlechter wird es bei $p_H = 5,4$; neben normalen Zellen findet man zahlreiche Kümmerformen; diese kleinen, schwach lichtbrechenden Stäbchen sind 0,6—0,8 μ breit und 1,2—1,5 μ lang, Iogen wird nicht gebildet. Sehr schwaches Wachstum findet bei $p_H = 5,0$ statt; hier sind fast nur Kümmerstäbchen zu beobachten. Bei $p_H = 4,4$ und 3,5 wird es gänzlich sistiert. Hiernach läßt sich die erwartete Beziehung zwischen der Reaktion des Nährbodens und dem Auftreten kugeliger Zellen nicht feststellen. Dagegen geht aus dem schlechten Wachstum, dem Auftreten von Kümmerformen und dem Aufhören der Iogenspeicherung der schädigende Einfluß niederer p_H-Werte hervor. Dieselbe Beziehung zwischen p_H-Wert und Reservestoffbildung wurde von Svarts (1932) gefunden, die darauf hinwies, daß die Wasserstoffionenkonzentration mit zu berücksichtigen sei, wenn die Reservestoffspeicherung als systematisches Merkmal benutzt werden soll.

b) Temperatur.

Der Einfluß der Temperatur geht aus Versuchen hervor, in welchen D-Agar und D-Bouillon-Kulturen aus verschieden altem Bakterienmaterial bei 16°, 30° und 45° C aufbewahrt wurden.

Das beste Wachstum zeigten die bei 30° C kultivierten Röhrchen. Die Kulturen enthielten sehr wenige oder keine atypischen Zellformen. Bei 16° C war das Wachstum im Verhältnis dazu schlecht. Die mikroskopische Untersuchung ergab neben normalen Zellen kleine, schwach lichtbrechende Stäbchen und kokkoide Gebilde. Dagegen konnte man an einigen der bei 45° C aufbewahrten Kulturen schon makroskopisch Veränderungen wahrnehmen. Die Kolonien waren nicht so kompakt wie die bei niederer Temperatur gezüchteten, sondern durchsichtig und schleimig. Der mikroskopische Befund ergab ebenfalls ein völlig verändertes Aussehen. Neben wenigen normalen Zellen und Zellfäden fand man die großen Kugelformen und kokkenähnlichen Zellen in großer Menge. Wenn auch nicht alle bei 45° C gezüchteten Kulturen in gleich großem Maße atypische Zellen enthielten, so war doch der stark verändernde Einfluß der hohen Temperatur deutlich sichtbar.

Der Bedeutung des Sauerstoffs für die Entstehung atypischer Formen ist bereits bei Besprechung der kokkoiden Gebilde Erwähnung getan.

Einige Forscher glauben, daß man durch die Wirkung chemischer Agenzien und spezifischer Bedingungen ganz bestimmte Phasen aus dem Entwicklungskreis der Bakterien erhalten kann. (Fuhrmann 1908,

Kuhn 1931 u. a.) In den im folgenden geschilderten Versuchen wurde nun die Wirkung des Phenols und Lithiumchlorids auf das Verhalten der Bakterien geprüft.

c) Phenol.

Nach Kuhn (1931) soll bei Bact. coli, paratyphi u. a. durch Phenol und Ammoniak die Entstehung der C-Formen auf experimentellem Wege gefördert werden. Meine Versuche über den Einfluß von Phenol auf Bacillus amylobacter wurden nach der von Kuhn angegebenen Methode ausgeführt. Es wurde Bakterienmaterial in Phenollösungen von den Konzentrationen 1 : 100, 1 : 200 und 1 : 300 aufgeschwemmt und kurze Zeit (1—2 Min.) der Wirkung dieses Stoffes ausgesetzt. Von diesen Aufschwemmungen wurden D-Agarröhrchen beimpft und auf D-Agarplatten ausgespatelt[1]). Die mikroskopische Prüfung der Kulturen ergab, daß Phenol in der Konzentration 1 : 100 für vegetative

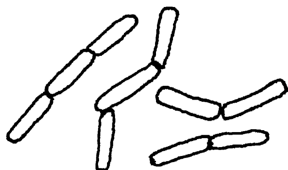


Abb. 8. 1 Tag alte Megaterium-Kultur. Nahragar. (Normale Stabchen.)

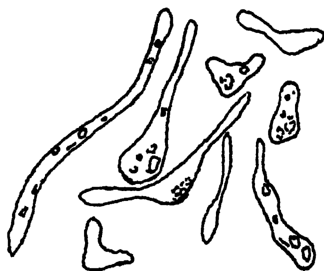


Abb. 9.

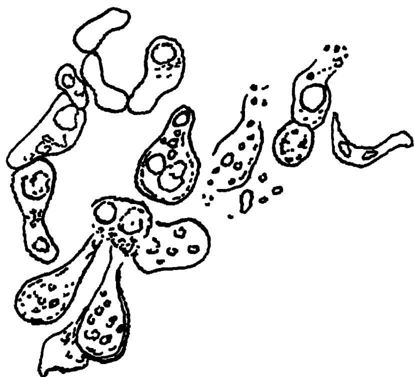


Abb. 10.

Abb. 9. 2 Tage alte Megaterium-Kultur. Lithiumchlorid-Bouillon. (Fadenformen.)

Abb. 10. 6 Tage alte Megaterium-Kultur. Lithiumchlorid-Agar. („Riesenformen“, in deren Innern sich Fetttropfen befinden.)

Formen stark giftig war. Von den angesetzten Kulturen zeigten immer nur wenige schwaches Wachstum. Die Kolonien bestanden vornehmlich aus Kümmerformen. Wurde von solchen Kulturen auf neue Nährböden übergeimpft, dann blieb meist jegliches Wachstum aus. Dagegen zeigte Sporenmaterial, das ebenso lange mit Phenol behandelt war, schon nach einigen Tagen Kolonien, die normale Zellformen enthielten. Bei genauer Durchsicht fand man nicht mehr atypische Zellen, als sie unter den üblichen Verhältnissen vorkommen. Die schwächeren Konzentrationen lieferten nicht selten sterile, meist aber im Wachstum gehemmte Kulturen mit atypischen Zellen. Alle mit Phenol angestellten Versuche zeigten eindeutig, daß der Impferfolg von der Menge des Ausgangs-Materials sehr abhängig war.

[1]) Bei der Impfung werden jedoch noch geringe Mengen der Phenollösung durch die Platinose auf die Agarschicht gebracht.

Wurde nur wenig Material übergeimpft, so blieb das Wachstum meist aus. Für diese Erscheinung bieten sich mehrere Erklärungsmöglichkeiten:

1. Zunächst muß bei der Überimpfung von Zellen der Impferfolg dann unsicher sein, wenn das betreffende Material schon unter normalen Verhältnissen geringe Keimfähigkeit besitzt.

2. Wenn überhaupt durch die Behandlung eine Giftwirkung mit Phenol stattfindet, wird dadurch eine Auslese auf widerstandsfähige Zellen vorgenommen. Je größer die Menge des Impfmaterials ist, um so mehr nimmt die Aussicht, resistente Zellen zu finden, zu.

Zum Vergleiche wurde in gleicher Weise Material von Bac. megaterium in Phenollösung derselben Konzentrationen wie bei Bac. amylobacter aufgeschwemmt und auf drei verschiedene Nährböden, D-Agar, Fleischextrakt-Pepton-Agar und Bouillon geimpft und bei 32° C gezüchtet. Die Untersuchung ergab, daß besonders die Bouillonröhrchen sich bezüglich der Bakterienformen nicht alle gleichmäßig verhielten. Wie auf den Agarnährböden waren auch hier neben normalen Zellformen (Abb. 8) lange Fäden mit Inhaltskörpern und große aufgedunsene Formen (ähnlich Abb. 9 u. 10) häufiger zu beobachten. Jedoch war in den Bouillonkulturen das Verhältnis oft zugunsten der atypischen Formen verschoben. In anderen Versuchsreihen fielen neben Sporen, großen runden Zellen, keulenförmigen Stäbchen noch unregelmäßig geformte, schleimartige Massen auf, in denen sich mit Methylenblau färbbare Körperchen befanden. Diese Gebilde könnten dem Aussehen nach mit dem von Löhnis beschriebenen Symplasma verglichen werden.

Die Beobachtung dieser atypischen Zellen im hängenden Tropfen bei 32° C ergab keine Veränderung der Gebilde, auch nicht nach längerer Beobachtungszeit. Die in den kugeligen Zellen vorhandenen lichtbrechenden Kügelchen wurden mit Sudan und Gelblösung als Fett identifiziert.

d) Lithiumchlorid.

Nach Angaben in der Literatur kommt dem Lithiumchlorid eine besonders große Bedeutung für die Formveränderung der Bakterien zu. Nach den Beobachtungen von Gamaleia (1900) — auf den die frühesten Untersuchungen von Lithiumchlorid auf Wachstum und Gestalt der Bakterien zurückgehen — und Maassen (1904) werden durch Zusatz von Lithiumchlorid Umbildungen der Bakterien hervorgerufen. Kuhn (1931) sieht die Wirkung der Wirkung des Lithiumchlorids in der Verdrängung der normalen Bakterienformen und Förderung seiner als Parasiten angesehenen A-Formen. Klieneberger (1930) fand in ihren Versuchen an Bact. coli, paracoli und anderen Bakterien ebenfalls eine mit wachsender Lithiumchlorid-Konzentration zunehmende Bildung von atypischen Formen. Oberhalb einer bestimmten Konzentrationsgrenze wird das Wachstum überhaupt sistiert. Die Formveränderung, die sie als „von Zellteilung zu Zellteilung" (S. 506) zunehmendes Anschwellen der Stäbchen beobachten konnte, führt sie auf hypertrophisches Wachstum zurück, das nach ihrer Ansicht durch das in die Zellen eindringende Gift ausgelöst wird. Nach Aufhören des Giftreizes sollen „die Bakterien unter Streckungen in die normale Form übergehen" (S. 506). Klieneberger konnte ebenso wie schon früher Maassen eine Gewöhnung und bei nicht zu hohen Konzentrationen Wachstumssteigerung feststellen. Schließlich soll nach einer Mitteilung

von Schmidt-Kehl (1930) eine schon normalerweise stattfindende Umwandlung von Sarcinaformen in gramnegative Stäbchen durch Lithiumchlorid beschleunigt werden.

In unseren Versuchen wurden D-Agar-Rohrchen, die 1%[1]) LiCl enthielten, mit verschieden altem Amylobactermaterial beimpft und unter sonst normalen Bedingungen gezüchtet. Selbst nach längerer Zeit fand auf diesem Nährboden kein Wachstum statt. In Versuchen mit niedrigen LiCl-Konzentrationen zeigten sich bei 0,1 und 0,3% nach 10 Tagen besseres Wachstum als bei 0,5%, hier waren auf dem oberen Teil des Schrägagars kleine, weiße Kolonien sichtbar. Diese bestanden nach dem mikroskopischen Bild meist aus Kümmerformen, die keine Reservestoffe gespeichert hatten. Im Innern solcher schwach lichtbrechenden Stäbchen traten oft Kügelchen auf, ähnlich den schon erwähnten Inhaltskörperchen, die Cunningham für Regenerativkörper im Sinne Löhnis' hält. Die mit solchem Material beimpften Kulturen blieben steril. Daraus kann man schließen, daß die lichtbrechenden Inhaltskörper, wie auch die Kümmerstäbchen selbst, nicht mehr weiter entwicklungsfähig sind.

Nach diesen Versuchen stellt die Konzentration von 0,5% LiCl die obere Grenze für das Wachstum von Bac. amylobacter auf unseren Nährböden dar.

Die Zellgröße der unter Lithiumchlorideinfluß gewachsenen Amylobacterstäbchen variierte sehr stark, von 1,2—6 μ für die Länge und 0,4 bis 1,2 μ für die Breite. Wurden Kolonien, die auf Lithiumchloridnährböden gewachsen waren, wieder dem Einfluß des LiCl ausgesetzt, so konnte während der Versuchsdauer ein Nachlassen der Giftwirkung festgestellt werden. So wurde in manchen Fällen noch bei Salzgehalten von 0,8—1% Wachstum erhalten. Dann aber nahm, je länger ein Stamm unter LiCl-Einfluß gezogen wurde, die Zahl der veränderten Formen ab.

Die mit Bac. megaterium und Bact. coli angestellten Versuche ergaben eine im Vergleich zu Amylobacter bedeutend höhere Resistenz gegen Lithiumchlorid. Selbst bei einer LiCl-Konzentration von 3,0% wurde noch starkes Wachstum beobachtet[2]). Während in Kulturen, die bei 0,1, 0,3 und 0,5% LiCl-Zusatz gezogen waren, sich kein Einfluß des Salzes auf diese Zellformen feststellen ließ, waren bei höheren Konzentrationen die Bakterienzellen verändert. Schon nach 24 Std. nahmen die Kolonien besonders auf D-Agar eine schleimige Konsistenz an. Außer großen kugeligen Gebilden, die nicht selten Vakuolen besaßen, traten ganz unregelmäßige, halbmondförmige Zellen und „Riesenformen“ auf (Abb. 9, 10 und 11). Einige von ihnen haben Ähnlichkeit mit den von Kuhn beschriebenen Pettenkoferien. Alle diese atypischen Zellformen besaßen in ihrem Inneren lichtbrechende Körperchen, die auch außerhalb der Zellen vorkamen und mit Sudan Fettreaktion zeigten.



Abb. 11. 14 Std. alte Megaterium-Kultur. Lithiumchlorid-Agar. (Große, unregelmäßige Zellgebilde.)

[1]) Durch Ausfällung von geringen Mengen Lithiumphosphat (ca. 7% der angewandten LiCl-Menge) infolge der in der Nahrlösung vorhandenen Phosphorsäure sind die zur Wirkung gelangten LiCl-Mengen etwas kleiner als angegeben.

[2]) Daß Bact. coli bei diesen und selbst noch höheren Konzentrationen — nach Klieneberger (1930) 8% — zumindest noch Wachstum zeigt, ist schon durch frühere Versuche bekannt (z. B. Maassen, 1904).

Impfte man nun von einer LiCl-Kultur, die in großer Menge atypische Zellen enthielt, auf normalen Nährboden über, so fand man schon nach 24 Std. gutes Wachstum. So gewonnene Kulturen bestanden aber nur aus normalen Stäbchen, nur selten konnte man daneben einen körnigen Rest und andere, undefinierbare Gebilde (vielleicht Überreste der Kugelformen) beobachten. Wurde nun Material von diesen normalen Stäbchen auf LiCl-Nährboden übertragen, so zeigten sich wieder schleimige Kolonien, die hauptsächlich aus den großen kugeligen Zellformen bestanden. Man konnte das Experiment beliebig oft wiederholen, immer wieder fand man auf LiCl-Nährboden die atypischen Zellen und auf normalem Nährsubstrat normale Stäbchen.

Um eine genaue Vorstellung von der Entstehung der durch LiCl bedingten Veränderungen, dem Wesen und der Bedeutung der atypischen Formen zu erhalten, wurden verschiedene Dauerbeobachtungen von Bac. megaterium im hängenden Tropfen ausgeführt. Zu diesem Zwecke wurden einmal normale Stäbchen aus LiCl-freien Kulturen in hängende Tropfen von D-Agar[1]) und Bouillon mit einem LiCl-Gehalt von 1,5% überführt. In anderen Versuchen wurden atypische Formen den Kulturröhrchen mit einem LiCl-Gehalt von 1,5% entnommen und in gleichem, jedoch LiCl-freiem Medium aufgeschwemmt und in hängenden Tropfen, in denen in der

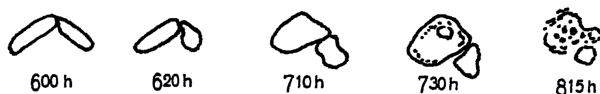


Abb. 12. Bac. megaterium. Entstehung atypischer Zellformen. Dauerbeobachtung. Lithiumchlorid-Agar.

Regel nicht mehr als 2—3 Zellformen enthalten waren, das Verhalten dieser Zellen beobachtet. Zur Wahrung möglichst gleicher Versuchsbedingungen wurde ein Teil der Objekte mittels eines heizbaren Objekttisches bei einer Temperatur von 32° C gehalten. Einige Beobachtungen wurden bei Zimmertemperatur ausgeführt. Zunächst waren die Versuchsergebnisse verschieden, je nachdem ob D-Agar oder Bouillon als Substrat benutzt wurde. Die auf die dünne Agarschicht des Deckgläschens übertragenen normalen Zellen zeigten anfänglich ein ganz normales Wachstum; allmählich aber wurden einige Zellen dicker und nahmen mehr und mehr rundliche Formen an (Abb. 12). Gleichzeitig damit gingen Veränderungen im Plasma vor sich. Es entstanden dann in der sich verdickenden Zelle verschieden starke, lichtbrechende Bezirke, aus welchen stark lichtbrechende Kugeln hervorgingen, die durch den positiven Ausfall der Sudanreaktion sich als Fett erwiesen. Gleichzeitig mit der Fettbildung wurde die Zellmembran deutlicher sichtbar. Dieser ganze Vorgang vollzog sich innerhalb von 2—3 Std. Es wurden aber einige Zellen von einer solchen Formveränderung nicht erfaßt. Bei diesen nahm das Lichtbrechungsvermögen immer mehr ab, schließlich lösten sie sich auf und ließen körnige Reste zurück.

Wurden normale Megateriumstäbchen in Bouillontropfen von 1,5% LiCl-Gehalt überführt, so ließ das anfänglich lebhafte Wachstum der Zellen bald nach. Zugleich setzten Teilungsvorgänge ein, ohne daß jedoch

[1]) Bei Verwendung von Agar wurde dieser in ganz dünner Schicht auf das Deckgläschen gegeben.

die Teilungsprodukte sich voneinander lösten. Die so entstandenen Gebilde machten ganz den Eindruck von Kokkenketten (Abb. 13). Die geschilderte Entwicklung war nach 12—15 Std. beendet. Nach ca. 20 Std. fielen einige Zellen durch starke Lichtbrechung auf. Der positive Ausfall der Sporenfärbung zeigte, daß diese Erscheinung von Sporen, welche die Zellen fast gänzlich ausfüllten, herrührte.

Zur Entscheidung der Frage, ob die unter dem Einfluß von Lithiumchlorid veränderten Megateriumzellen noch weiter entwicklungsfähig sind, wurden wiederholt atypische Formen aus Kulturen, die auf Nährböden mit 1,5% LiCl gewachsen waren, in LiCl-freien Nährlösungen aufgeschwemmt und im hängenden Tropfen der Dauerbeobachtung unterworfen (Abb. 14). Diese Versuche ergaben, daß die atypischen Formen, aber auch die nur wenig veränderten Zellen keine Wachstums- und Entwicklungsvorgänge mehr durchmachten. Eine Entstehung normaler Stäbchen ließ sich aber immer dann beobachten, wenn reichliches Bakterienmaterial übergeimpft war. Diese normalen Stäbchen entstanden aber, wie die Beobachtung ergab, durch Keimung aus übergeimpften, noch nicht geschädigten Sporen.

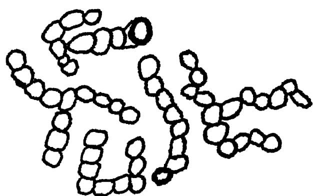


Abb. 13. Ca. 50 Std. alte Megaterium-Kultur. Lithiumchlorid-Bouillon.

Die hier geschilderten Erfahrungen über den formverändernden Einfluß von Lithiumchlorid stehen zum Teil mit älteren, an anderen Objekten gemachten Beobachtungen im Einklang (vgl. Gamaleia [1900] und Maaßen [1904]). Wie von allen früheren Untersuchern schon beboachtet, bewirkte LiCl in bestimmten Konzentrationen ein Auftreten mannigfach abweichender Zellformen. Für die Annahme, daß diese Formen parasitärem Befall ihren Ursprung verdanken im Sinne Kuhns (1931), bieten unsere Versuche nicht den geringsten Anhalt. Dagegen ist der Ansicht Klienebergers (1930) beizupflichten, daß es sich bei den atypischen Formen um durch das Salz geschädigte und nicht weiter entwicklungsfähige Formen handelt. Für diese Deutung spricht vor allem Klienebergers Befund, daß bei Aufhören der schädigenden Einflüsse noch nicht zu weit veränderte Formen ihre normale Gestalt und zugleich ihr Entwicklungsvermögen wiedererlangen können. Für Bac. megaterium konnte ich letzteres allerdings nicht bestätigen. Die für andere Objekte beschriebene Gewöhnung an steigende LiCl-Konzentration ließ sich auch für Megaterium beobachten.

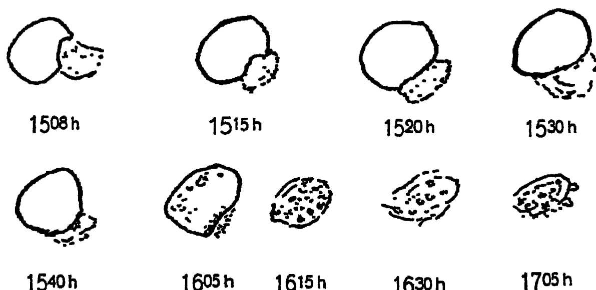


Abb. 14. Verhalten der durch Lithiumchlorid geschädigten Megaterium-Zellen in Nahrbouillon ohne Lithiumchlorid. Dauerbeobachtung.

Das Zustandekommen von Veränderungen der Bakterienzellen durch Salzzusätze könnte auf eine spezifische Wirkung der chemischen Substanz evtl. unter gleichzeitiger Änderung der osmotischen Verhältnisse zurückgeführt werden. Klieneberger hält eine osmotische Bedingtheit der

Zellveränderungen für ausgeschlossen, da nach ihrer Ansicht in einem konzentrierteren Medium keine Schwellungsvorgänge möglich sein können, während nach den Plasmoptyseversuchen A. Fischers (1906) Zellvergrößerungen auch bei höheren Außenkonzentrationen möglich sind. Eine Entscheidung, welche Ursachen für die beobachteten morphologischen Veränderungen verantwortlich zu machen sind, ließ sich nach unseren Versuchen nicht treffen.

Filtrationsversuche.

Für das Problem des Bakterienpleomorphismus ist die Frage nach dem Vorkommen „filtrierbarer" oder „ultravisibler" Entwicklungsstadien von Bedeutung. Der Terminus „filtrierbare Stadien" ist aber nur bei Angabe der Qualität des Filters und der Bakteriengröße sinnvoll.

Die Existenz „filtrierbarer" Bakterienformen wird vor allem von Löhnis (1921) angenommen. Für Bac. amylobacter glaubte Miehe (1923) zuerst filtrierbare Stadien festgestellt zu haben. Er benutzte Membranfilter nach Zsigmondy-Bachmann, „die mit der Zahl 20 geeicht waren", und schließt aus seinen Beobachtungen, daß Bac. amylobacter in einem Entwicklungsstadium durch das Filter gegangen sein muß, das ganz bedeutend kleiner ist als seine normale Größe.

de Regel (1932) konnte in Filtraten von Amylobacterrohkulturen bei Benutzung von Filtern mit 0.75 μ Porengröße ebenfalls Wachstum von Amylobacter nachweisen[1]).

Durch die von uns durchgeführten Filtrationsversuche sollte entschieden werden, ob bei Bac. amylobacter vermehrungsfähige Entwicklungsstadien existieren, welche Filter zu passieren vermögen, deren Porenbreite kleiner ist als der Durchmesser der kleinsten normalen Bakterienzellen; dabei war zunächst die Vorfrage zu beantworten, ob normale Zellen sich ohne Einbuße an Wachstumsvermögen durch Filter geeigneter Porengröße filtrieren lassen.

Für diese Versuche kam drei Tage bis vier Wochen altes Bakterienmaterial zur Verwendung, welches ausschließlich in Dextrosebouillon gewachsen war. Für die Filtration wurde der ganz aus Metall bestehende Bakteriendruckfiltrationsapparat (Membranfiltergesellschaft m. b. H. Göttingen) der mit Preßluft arbeitet, benutzt. Die Filtration wurde bei einem Überdruck von 1—1,5 Atmosphären vorgenommen. Es wurden geeichte Cella-Filter mit 0.75, 1,5 und 3,0 μ Porengröße benutzt.

Vor jeder Filtration wurden die zu filtrierenden Kulturen einer mikroskopischen Prüfung unterzogen. Das Filtrat wurde auf Agarplatten, von denen ich bei jeder Filtration zwei ansetzte, ausgegossen. Die mit dem Filtrat beschickten Platten wurden dann im Vacuum bei 30° C aufbewahrt und auf Bakterienwachstum untersucht.

Von sieben Versuchsreihen, in welchen je drei, im ganzen also 21 Fil-

[1]) Während der Drucklegung meiner Arbeit erschien eine Veröffentlichung von A. Imsenecki, „Struktur und Entwicklungsgeschichte des Granulobacter pectinovorum". Verf. filtrierte Granulobacter pectinovorum-Kulturen durch Chamberland-Kerze L_3 und konnte bei Impfung des Filtrats in 5 von 34 Fallen Wachstum von Granulobacter pectinovorum, der nach Bredemann (1909) zu Bac. amylobacter A. M. et Bredemann gehört, beobachten.

trationen ausgeführt und 42 Platten beschickt wurden, konnte in keinem Falle Wachstum festgestellt werden[1]).

Unsere Versuche ergaben also:

1. Nach Filtration durch Cellafilter von einer Porengröße von 0,75, 1,5 und 3,0 μ ließen sich keine „filtrierbaren" Stadien nachweisen;

2. Auch die normalen Amylobacterzellen und Sporen passierten nicht diese Filter, nicht einmal die von 3,0 μ Porengröße, ein Wert, der über dem des Bakteriendurchmessers der Zelle liegt.

Für das negative Ergebnis bieten sich verschiedene Erklärungsmöglichkeiten:

Zunächst kann der in der Literatur[2]) oft diskutierte Einfluß des Filtrationsvorganges für die Sterilität des Filtrates verantwortlich gemacht werden. Hierbei wäre u. a. an die Sieb- und Adsorptionswirkung, sowie an die Schichtbildung durch eventuell in der zu filtrierenden Flüssigkeit vorhandenen kolloidalen Teilchen zu denken, welche den Durchtritt der Bakterienzelle erschweren oder sogar verhindern kann[3]).

Weiterhin besteht die Möglichkeit, daß Amylobacterzellen zwar diese Filter, deren Porenweite über dem Wert der Bakteriengröße liegt, passierten, daß aber diese wenigen Zellen, die im Filtrat vorhanden sind, sich nicht weiter vermehrt haben.

Besonders aber kann eine Schädigung durch die relativ hohe Sauerstoffkonzentration, die mit der Anwendung von Preßluft verbunden ist, und die bei einer Atmosphäre Druck bei Zimmertemperatur ca. 540 mg/l beträgt, stattgefunden haben[4]).

Nach den Angaben Dorners (1924) soll eine Schädigung der vegetativen Formen von Bac. amylobacter durch Luftsauerstoff bereits nach 40 Min. eintreten; bei Sporen ließ sich dagegen nach drei Std. noch keine Schädigung feststellen. Nach einer Angabe von Bredemann (1909) behielten Sporen nach einer 15 Wochen langen Einwirkung einer Sauerstoffkonzentration von 26 390 mg/l — er brachte O_2 unter 20 Atmosphären Druck — noch ihr Wachstumsvermögen.

Nach diesen Ergebnissen wäre die Anwendung von Überdruck für die Filtration von Sporenmaterial bezüglich der Schädigungsmöglichkeit durch Sauerstoff unbedenklich.

Um nun zu prüfen, ob eine Schädigung der vegetativen Formen durch die verhältnismäßig hohe Sauerstoffkonzentration stattgefunden hatte, wurden in weiteren Versuchsreihen, welche ausschließlich mit jungen Kulturen, die noch keine Sporen enthielten, ausgeführt wurden, außer den Impfungen mit Material der Ausgangskulturen und dem Filtrate auch noch solche mit dem Filterrückstande vorgenommen.

---

[1]) Roberg konnte in noch nicht veröffentlichten Versuchen bei Impfung mit Filtraten von Amylobacter-Azotobacter-Rohkulturen ebenfalls kein Wachstum beobachten.

[2]) Es sei besonders auf die Ausfuhrungen von Bechold (1931) verwiesen. Siehe auch Schatzel (1932).

[3]) Nach Bechold (1931) soll die Bakterienzelle nur dann ein Filter passieren können, wenn dessen Porendurchmesser mindestens 8—15mal so groß ist, wie der Längendurchmesser der fraglichen Zelle.

[4]) Eine oligodynamische Wirkung in den Filtraten, die Püschel (1933) bei Verwendung von Filtrationsapparaten für Seitz-Filter, die aus Kupfer mit Silberüberzug bestehen, festgestellt hat, konnte in unseren Versuchen bei Gebrauch des vernickelten, aus Phosphorbronze bestehenden Bakteriendruckfiltrations-Apparates nicht beobachtet werden.

. Es wurden wiederum Filter von 0,75, 1,5 und 3,0 μ Porenweite benutzt. Durch Filter von 1,5 und 3,0 μ wurden je zwei Filtrationen hintereinander durchgeführt.

In fünf Versuchsreihen mit insgesamt 25 Filtrationen erwies sich das Filtrat in allen Fällen als steril. Dagegen zeigten sowohl die mit dem Ausgangsmaterial beimpften, als auch die von dem Bakterienmaterial des Filterrückstandes beschickten Kulturen schon nach kurzer Zeit Wachstum. Die hieraus entstandenen Kulturen verhielten sich völlig normal; sie bildeten Gas, was an dem zerklüfteten Agar zu erkennen war; ebenfalls ließ sich intensiver Buttersäuregeruch bemerken. Das gute Wachstum der mit dem Rückstand des Filters beimpften Kulturen erlaubt den Schluß, daß nicht eine durch den Filtrationsvorgang bedingte Schädigung Ursache der Sterilität des Filtrates ist.

Zusammenfassend kann also gesagt werden, daß unsere Filtrationsversuche keine Anhaltspunkte für das Vorkommen „filtrierbarer" Stadien bei Bac. amylobacter erbracht haben.

Besprechung der Ergebnisse.

Zur Beantwortung der Frage nach der Bedeutung der verschiedenen Zellformen in Kulturen von Amylobacter ergeben sich einige Anhaltspunkte aus der Kenntnis der Bedingungen, die ihr Auftreten fördern oder hemmen. Diese Bedingungen für häufigere Bildung atypischer Formen sind das Altern der Kultur, die Einwirkung chemischer Substanzen sowie schädliche Sauerstoffkonzentration.

Wenn auch das mikroskopische Bild einer Kultur in etwa für den jeweils angewandten äußeren Faktor spezifisch ist, derart, daß z. B. bei Behandlung mit Lithiumchlorid sich die Zusammensetzung einer Kolonie zugunsten oder ungunsten eines bestimmten Zelltypus ändern oder auch ein besonderer Faktor charakteristisch morphologische, sonst nicht vorkommende Veränderungen hervorrufen kann, so spricht doch die Ähnlichkeit der in allen diesen Fällen beobachteten Bilder, sowie ihr analoges Verhalten für die Gleichwertigkeit der auftretenden atypischen Formen.

Die Giftigkeit von Lithiumchlorid und Phenol ergibt sich aus der Tatsache, daß etwas höhere als die zur stärkeren Bildung atypischer Formen führenden Mengen dieser Stoffe völliges Zugrundegehen der Kulturen verursachen. Wirken die schwächeren Konzentrationen auch nicht mehr tödlich, so bedeutet ihre Einwirkung eine mehr oder weniger starke Schädigung der Organismen, so daß die infolge dieses Einflusses auftretenden Formen als geschädigte Zellen, als Degenerationsformen aufzufassen sind. Daß noch kleinere Mengen der gleichen Substanzen nicht giftig, sondern sogar stimulierend zu wirken vermögen, wie von Maassen (1904) für Lithiumchlorid angegeben wird, konnte in unseren Versuchen an Bac. megaterium gezeigt werden. Ebenso scheint verständlich, daß neben den mehr oder weniger geschädigten Formen der gleichen Kultur noch normale Bakterien zu finden sind, da einmal nicht alle Bakterien einer Kolonie in gleicher Weise von dem Gifte betroffen zu sein brauchen, dann aber auch die einzelnen Individuen verschieden widerstandsfähig sein können. Für das abweichende Verhalten verschiedener Stämme kann ungleiche Resistenz die Ursache sein.

Die Schädlichkeit des Sauerstoffs ergibt sich schon aus der anaeroben Lebensweise des Bac. amylobacter. In alternden Kulturen ist mit

dem vermehrten Auftreten atypischer Formen eine fortschreitende Wachstumsverminderung verbunden, wodurch die Deutung der atypischen Zellen als Degenerationsformen gerechtfertigt erscheint. Daß ein Altern der Kultur bzw. die Anhäufung von Stoffwechselprodukten zu veränderten Formen führen kann, wird heute in der Bakteriologie allgemein angenommen.

Aber auch unter Verhältnissen, die uppiges Wachstum bewirken, treten abweichende Formen auf, wenn auch in geringerer Zahl. In größeren Anhäufungen von Organismen, vor allem wenn diese auf relativ beschränktem Raum wachsen, ist damit zu rechnen, daß außer den gesunden Individuen einige geschwächte auftreten.

Für die Auffassung der atypischen Zellen als Degenerationsformen ist jedoch der Nachweis ihrer verminderten Vermehrungsfähigkeit unerläßlich. Unsere in dieser Hinsicht angestellten Versuche haben ergeben:

1. Im allgemeinen ist der Impferfolg um so schlechter, je reichlicher das Impfmaterial aus atypischen Zellen besteht.
2. Kokkoide Gebilde aus Kulturen, die bei schädlicher Sauerstofftension gehalten wurden, ließen sich gar nicht oder nur in sehr begrenztem Maße weiter züchten.
3. Die den atypischen Formen des Bac. amylobacter analogen Zelltypen von Bac. megaterium erwiesen sich im hängenden Tropfen als nicht wachstumsfähig.

Impft man von Material, das neben atypischen auch noch normale Zellen enthält, so entstehen, wenn sich überhaupt Wachstum zeigt, nur völlig normale Kulturen, was als weiterer Hinweis auf ein vermindertes Wachstumsvermögen der veränderten Formen angesehen werden darf. Dieses ist durch die Annahme erklärlich, daß in solchen Fällen nur die normalen Zellen sich vermehren, während die übrigen keine Weiterentwicklung mehr zeigen. Wenn Klieneberger für ihre Objekte eine Entstehung normaler Kulturen aus atypischen Zellformen als möglich ansieht, so konnte für unsere Versuche gezeigt werden, daß hier stets nur dann normale Bakterien erhalten wurden, wenn solche oder Sporen im Impfmaterial enthalten waren.

Da sämtliche morphologische Gruppen der atypischen Zellen herabgesetzte Lebensfähigkeit besitzen, dürfen sie einheitlich als Degenerationsformen gedeutet werden; dabei besteht aber die Möglichkeit, daß die einzelnen Formen Stufen verschiedenen Degenerationsgrades darstellen. In einem Falle ließen sich die kokkoiden Gebilde weiterzüchten. Das gelang aber nur bei einem der drei untersuchten Amylobacterstämme, und dann erwies sich die Vermehrungsfähigkeit als sehr begrenzt. Gerade die Tatsache, daß während der fünf mit ihnen durchgeführten Passagen die Wachstumsintensität mit der Dauer der Kultur sichtbar sich verminderte und gleichzeitig die Zellgröße abnahm, rechtfertigt auch hier die Deutung dieser Erscheinung als Degeneration.

Nach Bredemann und Haselhoff (1906) und Bredemann (1909) wird das Auftreten abweichender Zellarten ebenfalls als Degenerationserscheinung gedeutet. Die von Bredemann angegebene unbegrenzte Weiterzüchtbarkeit der „Mikrooidien“ ließ sich für die kokkoiden Gebilde der von uns benutzten Amylobacterstämme nicht nachweisen.

Die von Cunningham auf Grund der äußeren Form in starker Anlehnung an Löhnis erfolgte Deutung der atypischen Zellgebilde als Stadien eines Entwicklungszyklus ist nicht durch experimentelle Be-

obachtungen gestützt. Seine morphologischen Untersuchungen wurden vornehmlich an gefärbten Präparaten, die in zeitlichen Abständen angefertigt wurden, ausgeführt und sind deshalb mit dieser Methode anhaftenden Unsicherheiten belastet. Auch in unseren Präparaten waren Zellgebilde zu beobachten, die mit den von Cunningham beschriebenen Bildern übereinstimmten, doch entsprach die Cunninghamsche Erklärung nicht der weiteren Beobachtung der Gebilde. Ebenfalls konnten wir nicht feststellen, daß die in unseren Kulturen auftretenden Formen identisch waren mit ganz anderen Bakterien, die als eigene Arten beschrieben sind und die somit nach Cunningham in den Entwicklungskreislauf von Bac. amylobacter einzubeziehen wären. Unsere kokkoiden Gebilde unterschieden sich von Micrococcus aurantiacus und Micrococcus candicans.

Dem gegenuber führen vielmehr die Ergebnisse unserer Versuche zu der von vielen anderen Autoren, Bredemann, Winogradsky u. a. vertretenen Auffassung, daß die in Amylobacterkulturen auftretenden atypischen Zellen als Degenerationsformen zu werten sind, da die atypischen Formen vor allem unter ungünstigen Bedingungen auftreten, mit dem Auftreten der atypischen Zellgebilde das Wachstum nachläßt und diese veränderten Zellformen selbst ganz entwicklungsunfähig sind oder ihr Wachstumsvermögen stark eingeschränkt ist.

Obgleich vollauf anerkannt wird, daß unsere Beweisführung für die geschilderte Deutung der veränderten Zellen als Degenerationsformen in einigen Punkten vielleicht noch luckenhaft ist, muß andererseits betont werden, daß dieser Vorstellung doch wohl eine größere Wahrscheinlichkeit zukommt als der durch keine sicheren Beweise gestützten Theorie eines komplizierten Entwicklungskreislaufes im Sinne von Löhnis u. a. oder der Parasitentheorie Kuhns.

Zusammenfassung.

Vorstehende Untersuchungen sollten Aufschluß geben über das Wesen der in Kulturen von Bac. amylobacter auftretenden atypischen Zellformen und die Bedingungen ihrer Entstehung, mit besonderer Berücksichtigung der kokkenförmigen Gebilde. Auf Grund meiner Untersuchungen komme ich zu folgenden Ergebnissen.

1. Unter den üblichen Kulturbedingungen treten in Kulturen von Bac. amylobacter neben den normalen Zellen atypische Formen auf.

2. Das Auftreten aller atypischen Zellgestalten wird durch bestimmte Bedingungen, z. B. supra-optimale Temperatur, schädliche Sauerstofftension und Einfluß gewisser Salze, gefördert, auch nimmt ihre Menge mit dem Alter der Kultur zu.

3. Durch ihre Häufigkeit wie durch ihre Eigenschaften fallen besonders kokkenförmige Zellformen auf, die bei einem von drei isolierten Stämmen durch Einwirkung schädlicher Mengen Sauerstoff in Reinkultur erhalten werden konnten; die morphologisch und physiologisch näher untersuchten kokkoiden Gebilde waren nur begrenzt wachstumsfähig.

4. Die bei Bac. amylobacter auftretenden veränderten Zellformen und die analogen des Bac. megaterium sind nach eingehender Beobachtung im hängenden Tropfen nicht weiter entwicklungsfähig.

5. Die Empfindlichkeit der einzelnen Bakterienarten (Bac. amylobacter, Bac. megaterium und Bact. coli) gegen Lithium-

chlorid ist verschieden groß. Bac. megaterium bildete unter dem Einfluß dieses Salzes in erhöhtem Maße kleine und große kugelförmige Zellen, während diese letztgenannten Erscheinungen bei Bac. amylobacter nicht auftraten.

6. Da die unter den verschiedensten Bedingungen auftretenden atypischen Bakterienzellen kein unbegrenztes Wachstum zeigten und besonders häufig unter dem Einfluß von schädigenden Faktoren auftraten, müssen sie als Degenerationsformen angesehen werden.

7. Für die Existenz besonderer Entwicklungsformen, die sich auf andere Weise als durch Spaltung vermehren, konnten keine Anhaltspunkte gefunden werden. Ebenfalls existiert ein „life cycle" im Sinne Löhnis', den Cunningham für Bac. amylobacter annimmt, nach unseren Untersuchungen nicht. So konnte auch das Auftreten von Micrococcus candicans und aurantiacus, die nach Cunningham zum Entwicklungskreislauf gehören sollen, niemals beobachtet werden.

8. Filtrationsversuche, die mit Cellafiltern von 0,75, 1,5 und 3,0 μ Porengröße angestellt wurden, ergaben keine Anhaltspunkte für filtrierbare Stadien.

Literaturverzeichnis.

Almquist, E., Biologische Forschungen über die Bakterien. Stockholm 1925. — Bechold, H., Porengröße von Bakterienfiltern und Siebwirkung. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 112. 1931. S. 413.) — Bergeys, Manual of Determinative Bacteriology. London 1930. — Bredemann, G., Bacillus amylobacter A. M. et Bredemann in morphologischer, physiologischer und systematischer Beziehung. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 23. 1909. S. 385.) — Burri, R., Das Tuscheverfahren. Jena 1909. — Cunningham, A. and Jenkins, H., Studies on Bacillus amylobacter A. M. et Bredemann. (Journ. Agric. Sci. Vol. 17. 1927. p. 107.) — Cunningham, A., The Life-Cycle of Bac. saccharobutyricus v. Klecki. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 82. 1931. S. 25, 481; Bd. 83. 1931. S. 1, 219.) — Dorner, W., Beobachtungen über das Verhalten der Sporen und vegetativen Formen von Bacillus amylobacter A. M. et Bredemann bei Nachweis- und Reinzuchtversuchen. (Landwirtschaftl. Jahrb. d. Schweiz. Bd. 38. 1924. S. 175.) — Feulgen, R., Die Nuklealfärbung. (Abderhaldens Handb. d. biol. Arbeitsmethoden. Abt. V. 2. 1926. S. 1055.) — Fischer, A., Über Plasmoptyse der Bakterien. (Ber. Dtsch. Bot. Ges. Bd. 24. 1906. S. 55.) — Fuhrmann, F., Entwicklungszyklen bei Bakterien. (B. B. C. Abt. I. Bd. 23. 1908. S. 1.) — Gamaleia, N., Elemente der allgemeinen Bakteriologie. Berlin 1900. — Garbowski, L., Über Abschwächung und Variabilität bei Bacillus luteus Smith et Baker und Bacillus tumescens Zopf. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 19. 1907. S. 641, 737; Bd. 20. 1908. S. 4, 99.) — Graßberger, R. und Schattenfroh, A., Über Buttersäuregärung. (Arch. f. Hyg. Bd. 42. 1902. S. 219; Bd. 48. 1904. S. 1; Bd. 60. 1907. S. 40.) — Grohmann, H., Zur Kenntnis Wasserstoff oxydierender Bakterien. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 61. 1924. S. 256.) — Haselhoff, E. und Bredemann, G., Untersuchungen über anaerobe stickstoffsammelnde Bakterien. Landw. Jahrb. Bd. 35. 1906. S. 381.) — Hashimoto, S., Ein pleomorphes Bakterium. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 31. 1899. S. 85.) — Henrici, A. T., Morphology Variation and the Rate of Growth Bacteria. (Monogr. Gen. Agric. a. Industr. Microbiol. I. London 1928.) — Kitt, Milzbrei- und Blutbrei-Nährwasser zur Züchtung pathogener Anaerobier bei Luftzutritt. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 103. 1927. S. 42.) — v. Klecki, V., Ein neuer Buttersäuregarungserreger (Bac. saccharobutyricus) und dessen Beziehung zur Reifung und Lochung des Quargelkäses. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 2. 1896. S. 169, 249, 286.) — Klieneberger, E., Bakterienpleomorphismus und Bakterienentwicklungsgänge. (Erg. d. Hyg. Bd. 11. 1930. S. 499.) — Kuhn, Ph. und Sternberg, K., Über Bakterien und Pettenkoferien. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 121. 1931. S. 113.) — Lehmann, K. B. und Neumann, R. O., Bakteriologische Diagnostik. 7. Aufl. München 1926/27. — Löhnis, F., Studies upon the life cycle of the Bacteria. (Mém. Nat. Ac. Sc. Washington.

Vol. 16. 1921.) — Löhnis, F., Zur Morphologie und Biologie der Bakterien. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 56. 1922. S. 529.) — Lutz, G., Beiträge zur Variabilität des Milzbrandbazillus. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 97. 1922. S. 12.) — Maassen, A., Die teratologischen Wuchsformen (Involutionsformen) der Bakterien und ihre Bedeutung als diagnostisches Hilfsmittel. (Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt, Berlin. Bd. 21. 1904. S. 385.) — Matzuschita, T., Beobachtungen über den merkwürdigen Teilungsprozeß bei einem proteusartigen Luftbacillus. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 9. 1902. S. 257.) — Meyer, A., Die Zelle der Bakterien. Jena 1912. — Meyer, A., Praktikum der Bot. Bakterienkunde. Jena 1903. — Meyer, A., Über Kugelbildung und Plasmoptyse der Bakterien. (Ber. Dtsch. Bot. Ges. Bd. 23. 1905. S. 349.) — Miehe, H., Sind ultramikroskopische Organismen in der Natur verbreitet? (Biol. Zentralbl. Bd. 43. 1923. S. 1.) — Pietschmann, K., Die Zellkernfrage bei den Bakterien. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 2. 1931. S. 310.) — Pietschmann, K. und Rippel, A., Zur Zellkernfrage bei den Bakterien. Untersuchungen mit Hilfe der Feulgenschen Nuclealfärbung. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 3. 1932. S. 422.) — Püschel, J., Die oligodynamische Wirkung als Fehlerquelle beim bakteriologischen Arbeiten. (Klin. Wochenschr. Jahrg. 12. 1933. S. 1333.) — de Regel, S., Entwicklungsgang von Azotobacter chroococcum. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 86. 1932. S. 44.) — Ritter, W. und Dorner, W., Behebung eines wichtigen Nachteils des anaeroben Pyrogallolverschlusses. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 125. 1932. S. 379.) — Ruschmann, G. und Bavendamm, W., Zur Kenntnis der Rosterreger Bacillus felsineus Carbone und Plectridium pectinovorum (Bac. amylobacter A. M. et Bredemann). (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 64. 1925. S. 340.) — Schätzel, K., Beiträge zur Morphologie und Physiologie des bakteriellen Pflanzenkrebserregers. (Phytopath. Ztschr. Bd. 5. 1932. S. 251.) — Schmidt-Kehl, L., Der Formwechsel der Sarcinen. 1. Mitt.: Konstantes Auftreten von gramnegativen Stäbchen. (Arch. f. Hyg. Bd. 103. 1930. S. 235.) — Stapp, C. und Zycha, H., Morphologische Untersuchungen an Bacillus mycoides. Ein Beitrag zur Frage des Pleomorphismus der Bakterien. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 2. 1931. S. 493.) — Svarts, N., Was ist Bacillus amylobacter? (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 125. 1932. S. 115.) — Winogradsky, S., Etudes sur la Microbiologie du sol. (Sur les Microbes fixateurs d'azote.) (Ann. de l'Inst. Past. Vol. 40. 1926. p. 455.) — Winogradsky, S., Clostridium Pasteurianum, seine Morphologie und seine Eigenschaften als Buttersäureferment. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 9. 1902. S. 43, 107.)

Beschreibung einiger neuer Pilzarten aus dem Centraalbureau voor Schimmelcultures Baarn (Holland).

III. Mitteilung.

Von **F. H. van Beyma thoe Kingma**, Baarn (Holland).

Mit 7 Abbildungen im Text.

I. Ceratostomella major nov. spec. mit Thielaviopsis als Konidienform.

Aus dem Bakteriologischen Laboratorium der N. V. Unilever, Rotterdam, erhielten wir u. a. die Kultur eines Pilzes, der sich bei näherer Untersuchung als ein unbekannter Thielaviopsis herausstellte. In den Abimpfungen dieser Kultur entstanden nach einiger Zeit die Fruchtkörper einer ebenfalls unbekannten Ceratostomella, und es lag auf der Hand, zu vermuten, daß beide Pilze zusammengehörten. In der Tat konnte mittels Einzelspor-Kulturen der Beweis dazu erbracht werden. Wir haben beide Formen unter dem Namen Ceratostomella major zusammengefaßt und hier neu beschrieben.

Der erste Fall einer Ceratostomella mit Thielaviopsis als Konidienform finden wir bei Dade[1]), der Ceratostomella paradoxa als höhere Fruchtform von Thielaviopsis paradoxa (de Seynes) v. Höhnel entdeckte. Obwohl unser Pilz von dem letztgenannten verschieden ist, ähneln beide sich in der Bildung eines starken Geruches nach Äthylazetat; im Gegensatz zu Thielaviopsis paradoxa geht jedoch bei unserem Pilze dieser ätherische Geruch in den Kulturen bald verloren.

Die Konidienform Thielaviopsis.

Diese bildet ein braungefärbtes Myzel, dessen Hyphen 4—6 μ breit sind, mit zahlreichen Septen. An diesem Myzel entstehen kleine, ebenfalls septierte Auswüchse, welche, nachdem sie eine gewisse Größe, etwa 50—60 μ, erreicht haben, anfangen. Konidien zu erzeugen. Diese entstehen nach unseren Beobachtungen, im Anschluß an die Mitteilungen Brierleys[2]), im Innern der Konidiophoren auf folgende Weise: Im Scheitel des Konidienträgers entsteht durch Querwandbildung eine terminale Zelle, währenddessen die Membran des Trägers sich in zwei Schichten trennt, deren innere die junge Konidie umgibt. Nun wird durch Wachstum von unten her die äußere Schicht gesprengt und die jetzt fertig-gebildete Konidie hinausgeschoben (Abb. 1 a). Dieselbe nimmt schnell an Größe zu, so daß sie den Scheitel des Konidienträgers an Größe bald übertrifft. Manchmal sieht es so aus, als ruhe die Konidie jetzt in einer schüsselförmigen Aushöhlung des Scheitels, wie es Lagerberg und Melin für Cadophora fastigiata abbilden[3]). Inzwischen ist zuweilen eine Querwand entstanden, wodurch die Bildung einer zweiten Konidie vorbereitet wird. Die Konidienketten bilden sich sehr schnell und können eine große Länge erreichen. Meist sehen die Ketten verschieden aus. Einmal bestehen sie aus zahlreichen hyalinen oder leicht gefärbten Konidien von länglich-runder Gestalt, ohne Öltropfen, an den Enden abgeflacht und durch kurze Disjunktoren miteinander verbunden, sog. Mikrokonidien (Abb. 1 b). Die Größe dieser Konidien ist etwa 12 × 8 μ. Bei üppiger Entwicklung können diese Ketten eine Länge von einigen Millimetern erreichen, wobei eine Anzahl derselben sich zu dicken. aufrechtstehenden coremienartigen Säulen zusammenschließen. Die Farbe dieser Säulen ist dunkel-olivgrün. Ein anderes Mal werden kurze Ketten erzeugt von Konidien ver-

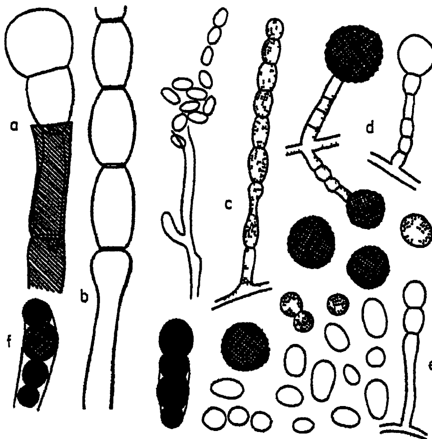


Abb. 1. Thielaviopsis. a und b Vergr. 750×. c—f Vergr. 245×. Erklärung im Text.

[1]) Dade, H. A., Ceratostomella paradoxa, the perfect stage of Thielaviopsis paradoxa (de Seynes) v. Höhnel. (Trans. Br. Myc. Soc. Vol. 13. 1928. p. 184.)

[2]) Brierley, W. B., The „Endoconidia" of Thielavia basicola Zopf. (Ann. of Bot. Vol. 29. 1915. p. 483.)

[3]) Lagerberg, Lundberg und Melin, Biological and practical researches into blueing in pine and spruce. Stockholm 1927. Fig. 61 auf S. 259.

schiedener Größe und Gestalt, im allgemeinen länglichrund oder zitronenförmig bis kugelig, sog. Makrokonidien. Diese Konidien weisen alle Übergänge auf von hyalin, glatt und dann mit körnigem Inhalt bis braun, undurchsichtig mit mehr oder weniger rauhem Exospor. Bei starker Vergrößerung und schräger Beleuchtung sieht man, daß die Unebenheiten in mehr oder weniger parallelen, polar verlaufenden Reihen angeordnet sind (Abb. 1 c—e). Die heller gefärbten unter denselben messen 10—18 × 7.3—9 μ, die braunen, welche das Reifestadium darstellen, 22—30 μ im Durchmesser.

Es kommt vor, daß innerhalb einer Konidienkette neben hyalinen Konidien sich braune befinden, ja in einigen Fällen wurde beobachtet, wie eine noch innerhalb des Konidienträgers sich befindliche Konidie schon braun und rauh war. Das Reifen der Konidien, d. h. das braun und stachelig werden, kann nämlich sehr schnell vonstatten gehen, so daß sie schon vor oder während der Bildung der Konidien eintritt: im letzten Falle sieht man, wie die braune Konidie eine birnförmige Gestalt angenommen hat, wobei der schmalere Teil noch in der „Büchse“ steckt. Wird die äußere Membran nicht gesprengt, sondern bleibt sie intakt, so wächst sie in demselben Maße mit wie die Konidienkette an Größe zunimmt. Deshalb sieht man in einem Präparat dieses Pilzes stets zahlreiche Teilstücke einer Konidienkette, von einer zarten Membran umhüllt, wodurch sie nicht leicht in den einzelnen Konidien zerfallen können (Abb. 1 f).

Diese Eigentümlichkeit kommt bei Thielaviopsis paradoxa nur verhältnismäßig selten vor. von Höhnel wies zuerst nach, daß beide Konidienformen bei Thielaviopsis nur verschiedene Entwicklungsstadien darstellen[1]). Er äußert sich hierüber folgendermaßen: „Zwischen beiden Sporenformen findet man alle Übergänge, indem sich aus den hyalinen Sporen die dunklen, größeren entwickeln können. Dies geschieht aber nicht immer. Nicht selten bleibt die ganze Kette hyalin, oft sieht man solche Ketten, in denen ein Teil der Sporen hyalin, ein anderer dunkel ist. Manchmal findet das Ausreifen der Sporen so rasch statt, daß man noch in der Fruchthyphe eingeschlossene reife schwarze Sporen sieht. Die hyalinen Sporen stellen daher keine besondere Sporenform dar, sondern nur ein Entwicklungsstadium der braunen, auf dem diese letzten zurückbleiben können. Die eigentlichen fertigen reifen Sporen sind die braunen.“ Mit diesen Bemerkungen sind unsere vorher genannten Befindungen also ganz in Übereinstimmung. Man hat denn auch bei der Bildung von Mikro- und Makrokonidien bei Thielaviopsis nicht mit verschiedengearteten Konidienträgern zu tun, sondern wir erblicken darin nur einen graduellen Unterschied in der Ausreifung der Konidien. Auch die Makronidien sind ursprünglich als Mikrokonidien entstanden, nur sind jene nicht auf dieser Stufe stehengeblieben wie diese.

Die Perithezien.

In den Reinkulturen entstehen innerhalb 8 Tage zahlreiche Perithezien (Abb. 2 a). Diese sind 320—480 μ breit und meist gedrückt-kugelig. Der schwarze Schnabel ist an der Basis 50—80 μ breit und erreicht eine Länge von 2—4 mm. Die Cilien sind septiert, an den Spitzen oft gabelförmig verzweigt (Abb. 2 d), 20—25 an der Zahl, 250—325 μ lang und 4 μ dick. Perithezien mit zwei und mit drei Cilienkränzen kommen gelegentlich vor.

[1]) von Höhnel, Fr., Hedwigia. XLIII. S. 295 ff. — Lindau, Rabenhorsts Kr.-Fl. Abt. VIII. 1907. S. 757.

Die Asci sind sehr schwer zu beobachten, weil sie außerordentlich vergänglich sind. In reifen Fruchtkörpern findet man überhaupt keine mehr, deshalb untersuchten wir unreife Fruchtkörper. Zu dem Zwecke entnahmen wir aus einer Reinkultur auf Lupinenstengel ganz junge Perithezien, welche wir mittels eines Deckgläschens auf dem Objektträger in einem Tropfen Wasser zerdrückten. Die herausquellenden Asci zeigten verschiedene Reifestadien. Das jüngste Stadium zeigt gelatinöse kugelige Massen mit körnigem Inhalt in starker Brownscher Bewegung. Das nächste Stadium kennzeichnet sich dadurch, daß schon die Umrisse der Askosporen angedeutet sind, welche dann in den folgenden Stadien immer deutlicher hervortreten.

Die halbreifen Asci haben eine keulig-zylindrische Gestalt und besitzen eine lang-ausgezogene Spitze (Abb. 2 b). Im weiteren Verlauf ihrer Bildung geht aber die keulig-zylindrische Gestalt immer mehr verloren. Die Sporen sind nämlich in einer schleimigen Masse eingebettet, welche im Wasser aufquillt und die wirkliche Gestalt dadurch unkenntlich macht (Abb. 2 c). Immerhin läßt sich die Größe der reifen Asci einigermaßen nach derjenigen der unreifen abschätzen, nämlich ungefähr 15—20 × 10—13 μ. Die Asci enthalten 8 Sporen, anscheinend unregelmäßig geordnet. Diese sind hyalin, einzellig und besitzen eine halbmondförmige Gestalt. Sie messen 7,3—8,3 × 3,7—4,7 μ (größte Länge × größte Breite) (Abb. 2 e). Aus den reifen Perithezien treten die Asci als eine große weiße Schleimkugel hervor, wobei die Cilien des Ostiolums auseinanderspreizen.

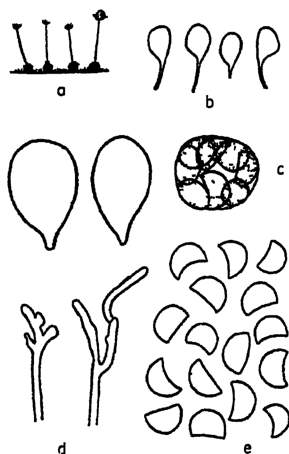


Abb. 2. Ceratostomella major. a Vergr. etwa 1½×; b und d Vergr. 245×; c und e Vergr. 750×. Erklärung im Text.

Im Gegensatz zu Ceratostomella paradoxa ist C. major homothallisch. Mehrere Einsporkulturen, ausgehend von Konidien, wurden angelegt, und regelmäßig traten hierin nach etwa 8—10 Tagen die Perithezien auf.

Die lateinische Beschreibung des Pilzes lautet folgendermaßen:

Ceratostomella major nov. spec.

Peritheciis numerosis, fere globosis, 320—480 μ longis, collo longo et nigro, 50—80 μ lato. Ciliis numero 20—25, 250—325 μ longis et 4 μ crassis, apice saepe ramosis, interdum ex perithecis verticillis binis vel ternis superimpositis. Ascis fugacissimus, late clavatis, cylindricis, circa 15—20 × 10—13 μ, octosporis, sporidiis hemidiscoideis, hyalinis, 7,3—8,3 × 3,7—4,7 μ. Forma conidialis est Thielaviopsis. Microconidiis hyalinis, oblongo-teretibus, 12×8 μ. Macroconidiis pallide vel obscure brunneis, globosis, spinis obtusis obsitis, 20—30 μ. Hab. isolata ex aere (N. V. Unilever, Rotterdam).

II. Margarinomyces atrovirens nov. spec.

Aus dem Bakteriologischen Laboratorium der Unilever N.V. in Rotterdam erhielt das Centraalbureau u. a. zwei Pilze, welche in Margarine schwarze Flecke verursachten. Der eine Pilz war als Margarinomyces Bubaki Laxa bezeichnet worden, der andere als eine abweichende Form. In der Tat wurde bei der Untersuchung festgestellt, daß hier Margarino-

myces Bubaki und eine unbekannte zweite Art derselben Gattung vorlagen.

Margarinomyces Bubaki wurde in Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 81. 1930. S. 392, von Laxa als Schädling der Margarine beschrieben. Nach diesem Autor bildet der Pilz Fäden, welche unregelmäßig dick sind; anfangs sind sie farblos, werden dann bald schmutzigbraun, zuletzt schwarzgrün bis grünlichschwarz. Die länglichen, schwach gekrümmten Konidien sind etwa 5 μ lang, einzellig und werden an apfel- oder birnförmigen Gebilden abgeschnürt. Das Centraalbureau erhielt im Oktober 1930 eine Kultur dieses Pilzes. Nach unseren Beobachtungen sind die fertilen Hyphen septiert und besitzen zahlreiche mehr oder weniger flaschenförmige konidientragende Äste, welche die Konidien einzeln abschnüren. Die Konidien sind hyalin, einzellig, länglichrund, oft etwas gekrümmt (wurstförmig) und 3,3—6,7 × 1,3—1,7 μ, meist 4,7 × 1,3 μ groß.

Die zweite Kultur nun hat große Ähnlichkeit mit Margarinomyces Bubaki, weicht aber sowohl in der Größe und Gestalt der Konidien als in der Farbe, welche heller ist (schwarzgrün gegen grünschwarz bei Marg. Bubaki auf Bierwürze-Agar), von demselben ab.

Die Beschreibung dieses Pilzes, den wir Margarinomyces atrovirens nennen möchten, lautet wie folgt:

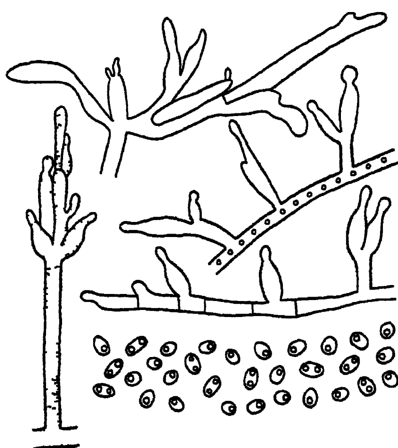


Abb. 3. Margarinomyces atrovirens, Konidienträger und Konidien. Vergr. 750 ×.

Margarinomyces atrovirens nov. spec.

Hyphen anfangs olivgrün, später grünbraun bis schwarzgrün, septiert, mit zahlreichen Vakuolen, oft zu gekräuselten Strängen vereint, welche den Kulturen ein wolliges Aussehen verleihen können.

Konidienträger unregelmäßig von den Hyphen abgehend, einfach oder mehrfach verzweigt, oft büschelig, hell grünbraun gefärbt, die einzelnen konidientragenden Äste mehr oder weniger flaschenförmig und etwa 10 × 3,3 μ groß, am Scheitel die Konidien einzeln abschnürend.

Konidien massenhaft, einzeln an den Trägern entstehend, nach dem Abfallen jedoch daselbst haften bleibend und zuletzt kleine Köpfchen von 10—12 μ Durchmesser bildend, leicht braun gefärbt, ellipsoidisch (mit 2 Öltropfen) oder fast kugelig bis eiförmig (mit einem exzentrisch gelegenen Öltropfen), 2,7—4,7 × 2—3 μ, meist 3,7—4,3 × 2,3—2,7 μ.

Reinkulturen. Auf Bierwürze-Agar in einer Petrischale nach 20 Tagen: Kolonie 6 cm, flachwollig, grün, 348—343 (Code des Couleurs) bis graubraun. Rand flach, grünweiß, 4 mm breit. Schwacher, säuerlicher Geruch. Unterseite schwarz bis violettschwarz.

Auf Röhrchen nach 14 Tagen:

Auf Bierwürze-, Kirsch- und Kartoffel-Agar wächst der Pilz sammetartig bis flachwollig, schwarzgrau mit grauweißem Rande.

Auf Kartoffelstücken eine kleine häutige Kolonie, ganz schwarzglänzend.

Auf Möhre eine größere häutige Kolonie, schwarzgrau bis grau.

Obige Röhrchen sind, mit Ausnahme der Kartoffel und Möhrenkultur. nur bis zur Hälfte bewachsen, während die entsprechenden Röhrchen mit Margarinomyces Bubaki ganz bewachsen und grauschwarz sind. Auf Röhrchen mit Kartoffelstücken und Möhre wächst M. Bubaki ebenso spärlich wie M. atrovirens.

Hab. Aus schwarzen Flecken in Margarine (Unilever N.V., Rotterdam).

Lateinische Beschreibung: Caespitulis dense aggregatis, tomentosis; hyphis brunneis vel olivaceis, dein atrovirens, septatis. Conidiis copiosis, acrogenis, subhyalinis continuis, ellipticis vel globoso-ellipticis, 3,7—4,3 × 2,3—2,7 μ uni- vel biguttulatis.

III. Isaria cretacea nov. spec.

Von Dr. H. B. Hutchinson und C. E. Grover, Epsom (Engl.), stammte die Kultur eines Pilzes mit schönen weißen Koremien. Ein Vergleich mit den bereits beschriebenen Arten der Stilbaceen führte zu dem Schluß, daß hier eine unbekannte Art vorliegen müsse, vielleicht aus der Gattung Sporotrichum. Dr. Petch war so freundlich, den Pilz ebenfalls zu untersuchen. Nach seinem Dafürhalten ist es weder Sporotrichum album noch Sporotrichum isarioides, ja er glaubt überhaupt, bezweifeln zu müssen, es mit einem Sporotrichum zu tun zu haben, auf Grund der Konidienbildung an phialidartigen Trägern. Das weitere Studium ergab die Richtigkeit dieser Anschauung; obwohl manche Konidienträger auf Sporotrichum deuten könnten, zeigen andere, und zwar die meisten, Ähnlichkeit mit denjenigen von Beauveria, und der Pilz könnte ganz gut zur letztgenannten Gattung gebracht werden, wenn nicht die typischen hin- und hergebogenen Sterigmen gefehlt hätten, welche für dieselbe so charakteristisch sind[1]). Die konidientragenden Hyphen besitzen außerdem nicht nur die flaschenförmigen Sterigmen, wie sie bei Beauveria auftreten, sondern am Scheitel weisen sie auch noch in Reihen angeordnete Höcker auf, wie man sie mitunter bei Sporotrichum beobachtet. Auch an diesen Höckern entstehen Konidien. Wir betrachten denn auch unseren Pilz als zwischen Sporotrichum und Beauveria stehend. Petch, in seinen Veröffentlichungen über insektentötende Pilze, ist der Ansicht, daß die Gattung Isaria aufzulösen sei in die Gattungen Sporotrichum, Beauveria, Spicaria u. a. m., je nachdem die Erzeugung der Konidien nach Art dieser Gattungen stattfindet, so daß die Gestalt der Koremien erst an zweiter Stelle berücksichtigt wird[2]). Trotzdem behält er den

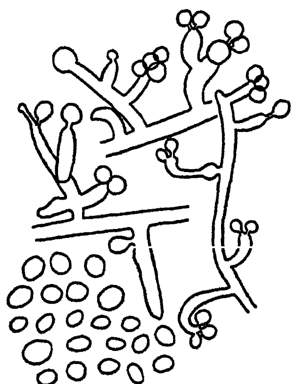


Abb. 4. Isaria cretacea. Vergr. 750 ×.

---

[1]) Petch, T., Studies in Entomogenous Fungi. VIII. Notes on Beauveria. (Transact. Br. Myc. Soc. Vol. 10. 1924—26. p. 248.)

[2]) Petch, T., Transact. Br. Myc. Soc. Vol. 16. 1931. p. 241.

Namen Isaria für eine Reihe von Spezies bei, wohl aus dem Grunde, weil diese Gattung einer gründlichen Umarbeitung bedarf und die Koremien doch recht auffällige Gebilde darstellen, welche sich zur Bestimmung oder Unterscheidung sehr gut eignen. Indem wir einstweilen diesem Beispiel folgen, möchten wir unseren Pilz unter dem Namen Isaria cretacea neu beschreiben.

Isaria cretacea nov. spec.

Koremien gesellig, 2—5 cm lang und $^3/_4$—$1^1/_2$ mm dick, kreideweiß, sammetartig, hirschgeweihartig verzweigt, nach dem Scheitel hin gleichmäßig keulig anschwellend, mitunter auch daselbst glatt und breit, mit einer 50 μ breiten, konidientragenden Schicht bekleidet.

Fertile Hyphen entweder mit allseitig abstehenden Sterigmen besetzt oder mit kleinen konidientragenden Höckern, meist mehreren hintereinander, versehen.

Sterigmen einfach oder mit einem kurzen Ast, mehr oder weniger flaschenförmig oder keulenförmig, oft am Ende umgebogen, von 10—15 μ Länge bei einer größten Breite von 3—3,3 μ, am Scheitel abgerundet und sich plötzlich verjüngend zu einem dünnen Stielchen oder 2—3 solcher erzeugend, welche je eine Konidie tragen.

Konidien zahlreich, hyalin, eiförmig, oft einerseits zugespitzt, leicht abfallend, an den Koremien zu kleinen, 10 μ dicken Häufchen zusammengeballt, von verschiedener Größe, 3,55 μ lang (Mittel aus 50 Konidien), meist 3,3—4 μ und 2,78 μ breit (Mittel aus 50 Konidien), meist 2,7—3 μ.



Abb. 5. Isaria cretacea v. Beyma.

Hab. Auf einem Paket Hefe, welches einige Zeit in feuchter Umgebung aufbewahrt worden war (Hutchinson, Epsom).

Die lateinische Beschreibung lautet: Coremiis numerosis, 2—5 cm longis et $^3/_4$—$1^1/_2$ mm crassis, colore cretoso-albo, velutinis, cervinis, apicem versus aequaliter incrassatis vel late applanatis, tectis strato conidiophoro 50 μ crasso. Hyphis fertilibus aut sterigmatibus crebris obsitis aut praeditis parvis projecturis conidiophoris pluribus juxtapositis. Sterigmatibus simplicibus vel cum brevi ramulo laterali, subphialeformibus vel clavatis, saepe incurvatis, 10—15 μ longis et 3—3,3 μ latis, apice subito in 1 usque 3 pediculos gracilis conidiophoros exeuntibus. Conidiis crebris, hyalinis, ovoideis, saepe uno fine acutis, saepe in capitula usque 10 μ dimensione junctis, inaequali inaguitudine, 3,3—4 × 2,7—3 μ. Hab.: ex fermento condito loco humido.

IV. Penicillium velutinum nov. spec.

Von Dr. Meinders, Apeldoorn, erhielt das Centraalbureau ein Penicillium, isoliert aus dem Sputum eines Kranken. Wir stellten den Pilz anfangs in die Nähe des Penicillium notatum Westl., von dem er sich jedoch durch die dunklere Farbe unterscheidet. Thom, der die Güte hatte, dasselbe zu untersuchen, glaubte es mit dem kürzlich publizierten Penicillium Charlesii G. Smith[1]) identifizieren zu können. Nach unseren Erfahrungen ergeben sich aber augenfällige Unterschiede, so daß wir es für angebracht halten, dieses Penicillium unter dem Namen P. velutinum neu zu beschreiben.

Pen. velutinum breitet sich auf Bierwürze-Agar schnell aus unter Bildung großer, flachwolliger Kolonien mit faserigem Rande. Ganz junge Kolonien sind im Zentrum schön blaugrün und besitzen einen grünlichweißen, strahlig-faserigen Rand. Das Myzel ist etwas wollig. Die Konidienträger sind unverzweigt oder haben einen Seitenast. Obwohl Metulae meist fehlen, sind sie dennoch mitunter anwesend; trotzdem stellen wir den Pilz in die Gruppe Monoverticillata-Ramigena. Ein Vergleich mit Penicillium Waksmani Zal. einerseits und Penicillium Charlesii G. Sm. andererseits zeigt den Unterschied mit diesen nahestehenden Arten.

Kulturen auf Bierwurze-Agar in Petri-Schalen.

Anzahl Tage	Pen. velutinum	Pen. Waksmani	Pen. Charlesii
5	Mehrere kleine Kol., bis 1 cm, sternförmig, im Zentrum 397 oder Übergang nach 398. Rand ausgefranst, grunlich - weiß. Farbl.Saum, 1—1½ mm. Größ. Kol. im Zentrum, wollig. Kein Geruch. Unterseite 253 B—266. Schnell sich ausbr. Kol.	Zahlreiche ganz kleine Kolonien, bis 5 mm, wollig, weiß, etwas erhaben. Rand kurz ausgefranst. Kein Geruch. Farbloser Saum kaum sichtbar. Unterseite 228 D. Langsam sich ausbreitende Kolonien.	Zahlreiche, ganz kleine Kolonien, bis 3 mm, sammetartig, hugelartig, weiß bis 371. Rand scharf. Kein Geruch. Unterseite 271—253 A. Kaum sich ausbreitende Kolonien.
10	Kolonien flach - wollig, groß, bis 2 cm, 398—399—400. Rand faserig-wollig, weiß, 2 mm. Farbloser Saum bis zu 4 mm. Unterseite 203 B—221.	Kol. sammetartig, flachwollig, bis 1½ cm, flachhugelig, 372 oder Farbe zwischen 372 und 367. Rand flach, 353 D, bis 1 mm breit. Farbl. Saum 2 mm. Unterseite 228 D. Kolonien etwas hohl.	Kol. klein, bis 1 cm, hugelig, mit kurzen Hyphenbundeln bewachsen, 367—368—374. Rand flach, weiß, ½ mm. Farbloser Saum fast ganz fehlend. Unterseite 228 A bis C.
20	Kolonien groß, flach, die ganze Schale ausfullend, flach-wollig, 339—340—300. Überwachsendes Myzel 344. Ganz schwacher Geruch. Unterseite 203 B.	Kol. sammetartig-filzig, flach-hügelig, zum Teil miteinander verwachsen, die Schale nicht ganz ausfullend, 372 u. Übergang nach 347—348. Kein Geruch. Unterseite 197—192. Kolonien hohl.	Kol. sammetartig, nicht über 1 cm groß, uber der Oberfläche zerstreut und diese nur zur Halfte bedeckend, hugelig, 299—300. Überwachsendes Myzel 375. Unterseite 228 A—B.

[1]) Smith, George, Some new species of Penicillium. (Transact. Br. Myc. Soc. Vol. 18. 1933. p. 90.)

Die Beschreibung des Pilzes lautet wie folgt:

Penicillium velutinum nov. spec.

Konidienträger von verschiedener Länge, 20—80 μ, meist 30—40 μ lang und 2,7—3 μ breit. gerade, rauh, unverzweigt oder mit einem Seitenzweig, in gewissen Abständen von den fertilen Hyphen abgehend, mitunter am Scheitel etwas verbreitert.

Metulae meist fehlend, sonst nur wenige, 3—4 an der Zahl, 10—12 μ lang und 2,7—3 μ breit. gerade oder keulenförmig, glatt oder rauh.

Sterigmen flaschenförmig mit kurzem Halse. 10—12 (—18) μ lang und 3—3,3 μ breit, 3—10 an der Zahl.

Konidien kugelig, glatt. leicht gefärbt, mit Ölimmersion etwas rauh erscheinend, 2,7—3,3 μ im Durchmesser, in langen divergierenden oder parallelen Ketten ohne Disjunktor.

Reinkulturen. Auf Bierwürze-Agar in Petrischalen schnell sich ausbreitende Kolonien. anfangs mit grünlichweißen, sternförmig ausstrahlenden Hyphen und blaugrünem Zentrum, 397. Nach 6 Tagen haben die Kolonien einen Durchmesser von 2 cm und sind sammetartig bis flachwollig. Die Farbe ist 398—423 und 362 —368 im Zentrum, nach dem Rande hin 392—397. Rand flachwollig, ausgefranst. 2 mm breit, grünlich-weiß. Kein Geruch. Unterseite der Schale 253 C—D—221—181.

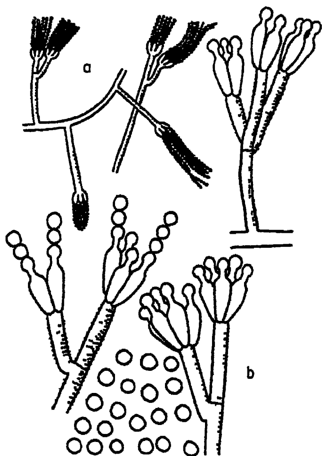


Abb. 6. Penicillium velutinum. a Vergr. 245 ×; b Vergr. 750 ×.

Auf Röhrchen nach 5 Tagen:

Auf Bierwürze-Agar: Decke puderig-wollig, im Zentrum 393. nach dem Rande hin 423—397. Rand flachwollig, grünlich-weiß, 1—2 mm. Rückseite orangegelb, 161.

Auf Kirsch-Agar: Decke puderig-wollig, 398—397—393, ganz unten im Röhrchen 378 D—B.

Auf Möhre: Das Stück ganz bewachsen mit einer sammetartigen Decke, 367—378 C—D—397. Rand der Decke 261. Vereinzelte Wassertropfen.

Auf Kartoffelstücken: Die Stücke nur in der oberen Hälfte bewachsen, sammetartig-puderig, 398, nach dem Rande hin 378 D.

Auf Raulin: Mäßiges Wachstum. Decke flachfilzig, gelbgrünlich bis weiß, mit einigen Querfalten.

Auf Reis: Zur Hälfte durchwachsen, oben ergrünt und puderig, 398.

Auf Häferflocken-Agar: Impfstrich ergrünt, 398—399.

Hab. Aus Sputum eines Kranken (Meinders).

Die lateinische Beschreibung lautet: Tellure velutino, prius subcoeruleo dein fuscoglauco. Conidiophoris inaequali longitudine. 20—80 μ plerumque, 30—40 μ longis et 2,7—3 μ latis, rectis, asperis, singulis vel cum ramulo laterali, apice saepe paulum dilatatis. Metulis si adsunt minime numerosis (3—4), 10—12 μ longis et 2,7—3 μ latis, rectis vel clavatis, levibus vel asperis. Sterigmatibus phialeformibus, collo brevi, 10—12 (—18) μ longis et 3—3,3 μ latis, numero 3—10. Conidiis globosis, levibus, colore pallide. per Zeiss 1/12″

observatis superficiem subasperam praebentibus, 2,7—3,3 μ, in longis catenis divergentibus vel parallelis sine disjunctore. Odore nullo, coremiis nullis. Hab.: ex sputo hominis aegroti (Meinders, Apeldoorn).

V. Scopulariopsis nicotianae nov. spec.

Von Jollyman in Bristol (Engl.) stammte die Kultur eines unbekannten Pilzes, isoliert von einem getrockneten Tabakblatt aus Nyasaland (Afr.). Die Kultur zeigte ein weißes, dichtverwebtes, filziges Myzel mit gelblichem Stich, welches der Agaroberfläche flach anliegt und gern an der Glaswand hochwächst. Die jungen Hyphen besitzen viele Vakuolen. Die fertilen Hyphen erzeugen zahlreiche langgestreckt-flaschenförmige Konidienträger, welche die Konidien in langen Ketten abschnüren. Diese Konidienbildung ist aber meist spärlich und tritt erst nach einigen Wochen auf, mit Vorliebe an der Glaswand oder an eingetrockneten Stellen der Kulturröhrchen. In Übereinstimmung mit dem Fundort scheint der Pilz also auf trockenen Substraten am besten zu fruktifizieren.

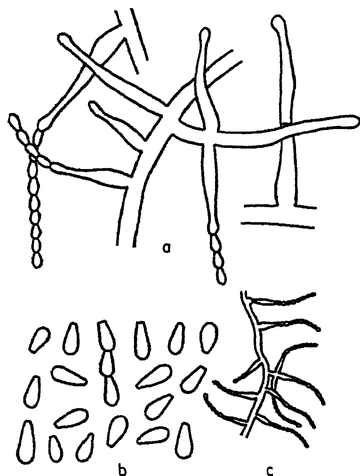


Abb. 7. Scopulariopsis nicotianae. a Konidienträger. Vergr. 750 ×; b Konidien. Vergr. 1080 × (Ölimmersion); c Fertile Hyphe. Vergr. 245 ×.

Die Konidien sind an einer Seite abgerundet, an der anderen Seite zugespitzt und gerade abgeschnitten, ihre Gestalt variiert von stumpf-eiförmig bis stumpf-keilförmig. Obwohl der Pilz, den wir zur Gattung Scopulariopsis bringen, sich in der Größe der Konidien Scopulariopsis Blochii (Matr.) Vuill. nähert[1]), ist der Unterschied im Wachstum zu groß, als daß diese Formen miteinander verwechselt werden könnten. Scopulariopsis Blochii nämlich bildet in Reinkultur eine feuchte Haut, von der sich zahlreiche, aus weißen Hyphen bestehende Hyphenbündel erheben. Wir werden unseren Pilz unter dem Namen Scopulariopsis nicotianae neu beschreiben.

Scopulariopsis nicotianae nov. spec.

Fertile Hyphen 2,7—3 μ breit, hyalin, mit zahlreichen, jedoch nicht massenhaften Konidienträgern, welche von den Hyphen nach allen Seiten abgehen.

Konidienträger unverzweigt oder mit 2—3 wagerecht stehenden Seitenästen, langgestreckt-flaschenförmig, unseptiert oder mit einer Querwand, meist 15—30 μ lang, an der dicksten Stelle 2,3—3,3 μ breit, nach dem Scheitel zu sich verjüngend und daselbst die Konidien in langen Ketten abschnürend.

Konidien eiförmig bis keilförmig, einerseits abgerundet, mit stumpfer, gerade abgeschnittener Spitze, hyalin, ohne Öltropfen, 3—5 × 1,6—2,3 μ, meist 3,3—3,7 × 2 μ groß.

[1]) Vuillemin, P., Les champignons parasites et les mycoses de l'homme. 1931. p. 65—66.

Reinkulturen. Auf Bierwürze-Agar in einer Petrischale nach 10 Tagen: Kolonie 7 cm im Durchmesser, bestehend aus einer geschlossenen Decke von hyalinen, über die Agar-Oberfläche kriechenden Hyphen mit locker-wolligem, weißem Luftmyzel darüber. Der Rand der Kolonie ist gerade. Schwacher, schwer definierbarer Geruch. Unterseite der Schale grüngelblich. Noch keine Konidien.

Idem nach 3 Wochen: Kolonie unverändert. Beginnende Bildung von Konidien.

Hab. Von einem getrockneten Tabakblatt aus Nyasaland (Jollyman).

Die lateinische Beschreibung lautet: Hyphis fertilibus, 2,7—3 μ latis, hyalinis cum conidiophoris crebris. Conidiophoris singulis vel ramulis lateralibus duobus vel tribus horizontalibus, elongate phialeformibus, inseptatis vel unosepto praeditis, plerumque 15—30 μ longis et 2,3—3,3 μ latis, apicem versus tenuatis ibique conidia longis catenis stringentibus. Conidiis ovoideis usque cuneatis, altero fine rotundatis, altero obtusis recta detruncatis, hyalinis, sine guttulis oleosis, 3—5 × 1,6—2.3 μ, plerumque 3,3—3,7 × 2 μ. Hab.: ex folio siccato Nicotianae Tabaci ex regione Nyasa, Africa (Jollyman, Bristol).

Zusammenfassung.

Es werden 5 neue Pilzspezies beschrieben: Ceratostomella major mit Thielaviopsis als Konidienform, Margarinomyces atrovirens, Isaria cretacea, Penicillium velutinum und Scopulariopsis nicotianae.

Fusarium near-wilt of Pea.

By W. C. Snyder[1]) and J. C. Walker[2]).

With 4 figures in the text.

The Fusarium disease of pea, Pisum sativum L., have engaged the attention of investigators repeatedly in various parts of the world since the beginning of the present century. As a result Fusariosis of pea has been resolved gradually into several separate diseases upon the basis of cause. Some of these have become recognized on both the continents of Europe and America (21), but the actual distribution in most cases is not fully known. Many factors may operate in explaining the differences in occurrence and economic importance of the separate diseases. No doubt seasonal temperatures, latitude, soil character, varieties of pea cultivated, and horticultural practices exert limiting influences (12, 27), once the organisms have become distributed by means of infested seed or other agencies of transfer (17). However the elimination of individual diseases from the disease com-

[1]) National Research Fellow in the biological science for the year ending December 1, 1934. Now, Junior Pathologist, Division of Plant Pathology, University of California, Berkeley, California, U. S. A.

[2]) Plant Pathologist, Department of Plant Pathology, University of Wisconsin, Madison, Wisconsin, U. S. A.

plex through the development of resistant varieties of plants, or by other practices, has revealed more clearly the remaining diseases of the complex, both as to cause and distribution. This has been the experience with the near-wilt disease. The importance and distribution of pea-near-wilt has been appreciated only in the last three or four years following the widespread use in America of pea varieties resistant to wilt, caused by F. orthoceras App. et Wr. v. pisi Linford, and which previously was the principal or only vascular Fusarium wilt of pea recognized. The present paper describes this new wilt of pea, known as near-wilt, and the organism causing it, F. oxysporum f. 8, n. f.

Pathological phases of the studies for the most part were made by the writers in the Department of Plant Pathology at the University of Wisconsin, and in the Division of Plant Pathology at the University of California. The taxonomy of the causal fungus was studied by one of the writers[1]) under a fellowship appointment from the National Research Council of America, in the laboratory of Dr. H. W. Wollenweber, Biologische Reichsanstalt, Berlin-Dahlem, Germany. The writer wishes to express his gratitude to the National Research Council for making the studies possible, to Director Dr. E. Riehm for the facilities freely provided at the Biologische Reichsanstalt during the year 1934, and to Dr. H. W. Wollenweber for the kindly and valuable suggestions generously given throughout the investigations and in the preparation of the Fusarium diagnosis. This writer also wishes to acknowledge the helpful council of Dr. R. E. Smith of the Division of Plant Pathology at the University of California. The writers are indebted to Dr. M. E. Anderson of Rogers Brothers Seed Company, for his cooperation in the interests of the work.

History of the disease.

In 1923 Jones (8) made a study of the Fusaria associated with diseased peas in the United States. As a result of his studies one active parasite of peas was found and described under the name of F. Martii App. et Wr. v. pisi, new var. This fungus has since been classified (20) as F. solani (Mart.) App. et Wr. v. Martii (App. et Wr.) Wr. f. 2 Snyder. Of several other Fusaria isolated and tested for pathogenicity, four belonged to the Section Elegans: F. oxysporum; F. sclerotioides Sherb., later referred to synonymy with F. oxysporum v. aurantiacum (Lk.) Wr.; F. vasinfectum Atk.: and F. redolens Wr. However no evidence of infection was obtained with these fungi, with the exception of a small percentage of wilted plants grown in soil infested with Jones' F. sclerotioides under certain conditions of inoculation. This was perhaps the same disease that is known today as near-wilt. At that time no importance was ascribed to the disease.

Most of the early literature dealing with a wilt-like disease of pea in America has been linked to the wilt of pea described by Linford (11) in 1928 as a vascular disease caused by F. orthoceras v. pisi, new var. Since this was the only wilt disease of pea known at that time, it came to be known as "the Fusarium wilt of pea". When not complicated by the presence of other diseases, wilt is distinguished by the yellowish stunted appearance of the infected plant, by the downward and backward curl of the leaves, and by a yellowish to reddish orange discoloration of the vascular system in a root and epicotyl the cortex of which may show no macroscopic evidence of invasion. The fungus gains entrance to the plant through the small rootlets and until late in the development of the disease is confined largely to the vascular cylinder. Economic control of this virulent

[1]) W. C. Snyder.

parasite (19) owes itself to the existence of naturally resistant varieties of pea (26) and to the fact that resistance is hereditary as a single dominant Mendelian factor (25).

When it became clear that wilt could be controlled successfully through the use of varieties known to possess resistance (26), evidence was gradually accumulated by the writers during the 1931 and 1932 seasons that another disease resembling wilt in its symptoms but differing principally in its parasitism, was present in some pea sick soils. The disease had apparently been obscured by the closely similar wilt disease, and only after elimination of the latter by the use of wilt resistant varieties did the new disease become apparent. The same experience was general for the major pea growing areas of the United States as revealed by surveys made by the writers and from diseased material received from many states. The disease was given the name "near-wilt" because of its close resemblance to wilt, and its distribution and distinguishing characters described (18, 27).

About the same time Starr (22) had observed a wilt disease in Minnesota which did not agree in several important respects with the known pea wilt, caused by F. orthoceras v. pisi. Starr's observations upon both the disease, and the causal organism referred by him under the number 29—300 C, leave little doubt but that he was also dealing with the near-wilt disease.

Two years later Harter (7) reported a "new wilt of pea" the description and occurrence of which coincided essentially with the earlier reports of Snyder (18), Walker and Snyder (27) and Starr (22). It was reported by Starr that his 29—300 C organism probably belonged to the F. orthoceras group, while Harter stated that his disease was caused by F. oxysporum v. aurantiacum and F. vasinfectum v. lutulatum (Sherb.) Wr.

In European literature van Hall's (6) paper early called attention to a wilt disease of pea in Holland under the name of St. John's disease. Although his account of the disease and of the organism associated with it, F. vasinfectum v. pisi, new var., is brief, van Hall apparently was dealing with a member of the form circle F. oxysporum, for reasons taken up elsewhere (21), and his F. vasinfectum v. pisi has been assigned as a synonym of F. oxysporum f. 8.

Since van Hall's paper investigators in several countries have demonstrated the occurrence and pathogenesis of various other Fusaria upon peas (11, 14, 22, 24), but it is only recently that a comprehensive study has been made (28) of any parasitic Elegans Fusarium on pea in Europe. Went (28) in observations upon pea Fusariosis in Holland over a period of several years found a member of the F. oxysporum group associated with a vascular wilt of pea in the field and proved it to be parasitic in pathogenicity tests. It is likely that this disease was the same at that treated in the pioneer work of van Hall (6). A similar organism was found by Snyder (21) on peas in central Europe. The disease discussed herin under the name of near-wilt is widespread and may be found in the pea growing regions of both America and Europe. The disease in Europe is referred to under the name of St. John's wilt (21).

Symptomology.

The disease symptoms upon the above ground plant closely resemble the wilt disease described by Linford (11). The foliage becomes yellow,

the leaflets and stupules may become recurved downward and inward in the manner of wilt and under high temperatures quickly wither from the base of the plant upward, as shown in Figure 1. Premature death of the infected pea plant follows. However stunting of growth and the rapid wilting under proper conditions that often characterizes wilt, is frequently less pronounced with the near-wilt disease in which the symptoms may not appear until late in the development of the plant. The rate and character of wilting depend in part upon the factors influencing infection, and are therefore variable. The unilateral development of the disease (Figure 1) is somewhat more common than in wilt. In plants in which the disease develops rather slowly, the organism often travels up one side of the stem affecting leaves and stipules in its path from base to growing tip. This localized effect may extend to single leaflets or even to one side of the leaflet.



Fig. 1. Symptoms of the near-wilt disease of pea upon a variety resistant to F. orthoceras v. pisi, but grown upon soil naturally infested with F. oxysporum f. 8. In a field planting upon this same soil in 1934, spots of 100% kill of wilt-resistant varieties were obtained from near-wilt A. Early symptoms of the disease. Progressively from the base of the plant upwards the leaflets and stipules curl downward, become yellow, wither, and finally turn almost white and crisp. Frequently new green shoots appear at the base of the plant as shown here, but later may become diseased also or fail to develop. B. Unilateral development of the near-wilt disease in an advanced stage. These symptoms are often quite marked owing to the relatively slow development of the disease in comparison to wilt. The disease has gone up the stem taking only one stipule all the way up the plant while it has advanced out into the leaves in the same way taking only one leaflet in each case. The adjacent stipules and leaflets remained perfectly green and normal. F. oxysporum f. 8 was isolated from this plant as far up as the sixth internode.

Symptoms of the root and under ground stem of plants suffering from near-wilt again resemble those of wilt infected peas. The vascular system may exhibit a brown to orange or deep red discoloration that sometimes extends into the above ground stem in a manner usual for other vascular Fusarium diseases. It is sometimes possible to recover the fungus from quite high in the plant which is seldom the case with wilt. Cross sections of diseased roots reveal the presence of hyphae in the vascular elements. Although the small rootlets may be bronzed showing evidence of

decay, or be rotted away, the main root and foot of near-wilt plants are frequently free of any conspicuous decay of the cortex, when unaccompanied by other pea diseases. There appear to be, however, conditions of infection which favor invasion of the cortex more than is generally true of wilt, and in this case symptoms of root rot attended by a slight discoloration of the corticial tissues may be detected. Under conditions of high humidity the near-wilt Fusarium has been observed sporulating about the lower part of the aerial stem of diseased plants in late stages of the disease. The same phenomenon has been seen also in the case of the wilt disease (17).

Went (28) reported practically no external discoloration of the roots of plants infected with the disease as it occurs in Holland, while internally the vascular system was stained orange. These symptoms, characteristic for near-wilt as well as for other diseases caused by Elegans Fusarium were found by Went exclusively with F. oxysporum and not with Fusaria of other sections. Similar symptoms attended the disease in Germany (21).

A common expression of near-wilt in the field is the occurrence of yellow isolated plants which, however, may be numerous. In badly infested soil large patches or spots of peas infected with near-wilt may occur giving the impression of a wilt infestation, but such severe infestations so far have not become general. In such instances field symptoms are of little value in differentiating between the two diseases (unless the field is planted to a variety known to be wilt resistant) inasmuch as the foliage and root symptoms, as well as the field picture, resemble closely wilt caused by F. orthoceras v. pisi, and diagnosis therefore must be supplemented by a cultural analysis of infected specimens. As high as 100% loss from near-wilt has been seen during the 1934 season in plots of wilt-resistant varieties grown in Wisconsin, and similar spots are known in California.

Frequently the near-wilt Fusarium and a member of the section Martiella have been found associated in a diseased plant. This is a common experience also with other vascular wilts. The presence of the Martiella Fusarium may produce additional symptoms of a root rot nature, not typical of the wilt disease in question. This is particularly the case when F. solani v. Martii f. 2 attends the near-wilt fungus inasmuch as then both are active parasites of the pea plant, the former primarily of the cortex and the latter primarily of the vascular cylinder.

An extensive test of varieties susceptible to near-wilt has not been made but the disease has been found with the following varieties of pea: Wisconsin Early Sweet, Bruce, Senator, Prince of Wales, Alderman, Green Admiral, wilt-resistent Perfection, Maryland Alaska (all of these varieties are resistant to F. orthoceras v. pisi), Alaska, Thomas Laxton, Perfection, Surprise, Laxton's Progress and Hundredfold. The economic importance of near-wilt is emphasized by the fact that in addition to being widespread, many varieties that are either resistant or susceptible to wilt, are alike susceptible to near-wilt.

The occurrence of near-wilt has been reported for Wisconsin, Maryland, Delaware, New Hampshire, Massachusetts, Idaho and Montana (18). What may be the same disease is reported by Starr (22) for Minnesota, and by Harter (7) for Maryland, Ohio, Virginia, South Carolina, Wisconsin, Colorado, Washington and Idaho. One of the writers has observed it in California, and there is evidence that the disease is also present in Europe (21).

Etiology.

During the past four summers a Fusarium has been consistently isolated from the discolored vascular systems of diseased peas that showed symptoms of near-wilt. These diseased specimens, representing a number of varieties and including mostly those resistant to wilt, have been collected or received from several pea growing regions of the United States, from Maryland to California. Thirty five representative isolations from near-wilt plants have been tested for pathogenicity and found parasitic on one or more pea variety known to be resistant to wilt, and on wilt-susceptible varieties where tested. Bruce, Wisconsin Early Sweet, and Laxton's Progress have been among those used in the majority of tests.

The inoculation method employed was the same as has been followed in similar studies (19) upon the wilt disease. Pure culture of the Fusaria were grown on a sterilized mixture of equal parts of moist cornmeal and sand and after about two weeks thoroughly mixed with soil. In some experiments steam sterilized soil was used, in other instances natural soil that had not been in cultivation was employed. Both have yielded positive infection results with from 30 to 100 percent of disease. In some cases the seeds were surface sterilized before planting. In the greenhouse disease symptoms and death occurred about blossoming time or earlier, while the control plants continued growth until normal maturity was reached. When the inoculum was mixed with sterilized soil disease symptoms appeared more rapidly upon the first crop of peas than upon those planted later. A suitable virgin soil has generally proved more satisfactory than autoclaved soil for testing both the wilt and near-wilt Fusaria, when large numbers of control plants are used in the experiment, and represents a more natural soil environment for the plant.

The manner in which pathogenicity tests were made is shown in the following example using a culture from Maryland:

A half dozen six inch pots of steam sterilized soil were prepared. About 300 grams of cornmeal sand inoculum, prepared as explained above, was thoroughly mixed with the soil in each of four of the pots. Ten seeds of the Wisconsin Early Sweet variety were than planted in each of two of the inoculated pots and in one of the uninoculated pots. The others were sown with seed of the variety Laxton's Progress. All seeds were surface sterilized in mercuric chloride solution prior to planting. Germination of the seed under these conditions ranged from 70 to 100 percent. At the end of 7 weeks two to five plants in each of the inoculated pots showed pronounced symptoms of disease. The foliage was yellow, the plants somewhat retarded, and the leaflets yellow and curled. The lower leaves were withered and the plants were dying. Other plants in the inoculation pots showed signs of disease in comparison to the control plants which appeared healthy and normal. At the end of the eigth week all of the Laxton's Progress and half of the Wisconsin Early Sweet plants were completely wilted. The severely diseased individuals of both varieties were removed from the soil and the roots washed. Many of the small rootlets were decayed and bronzed regions indicating some cortical rot of the main root were found, but the macroscopic symptoms upon the underground part of the plants was relatively slight and did not seem commeasurate with the disease shown in the aerial portion. Much more severe cortical decay of the foot and root of peas parasitized by F. solani v. Martii f. 2 and Aphanomyces eu-

teiches Drechsler is commonly accompanied by only minor changes in foliage symptoms. However, upon cutting away the cortex of the foot and root of the near-wilt plants a bright orange brown to deep red discoloration of the vascular system revealed an invasion of the conducting tissues, which, as in the case of wilt, could explain the aerial symptoms of disease upon the basis of a distribution to and accumulation in the foliage of the toxic elements of fungus metabolism. Although in several instances the root of a diseased plant showed some evidence of cortical invasion or bronzing, the foot or epicotyl as a rule appeared white and disease free. Even in this case the vascular discoloration extended not only from the root into the foot, but also varying distances into the above ground stem. By cutting away the healthy cortex with a sterile knife and plating on an acidified agar medium the orange stele from the highest point of its detection in the plant, pure cultures of the causal organism were obtained. These were found to be identical with the original culture and therefore to be parasitic upon the varieties Wisconsin Early Sweet and Laxton's Progress, the former of which is wilt-resistant and the latterwilt-susceptible.

In an experiment using virgin soil inoculated with a Wisconsin culture of the near-wilt Fusarium, the wilt-resistant variety Bruce showed symptoms of the disease when 8 inches high while control plants remained healthy. Examination of the roots and epicotyl of these plants revealed no clear outward evidence of invasion. The cortex was quite white and sound, yet from the lightly discolored vascular systems was cultured the near-wilt fungus, the presence of which evidently accounted for the expression of disease in the foliage.

There was some evidence in the pathogenicity trials of differences in virulence between the various strains of the fungus, but all acted in producing symptoms of the near-wilt disease. This collections of tested strains of the near-wilt Fusarium, derived in each case from a single spore, formed the basis of the following study upon the taxonomy of the parasite.

Taxonomy.

Macroscopic Characters.

At the outset of studies with the near-wilt Fusarium it became apparent that variability occurred at least in respect to macroscopic characters of the fungus. One of the conspicuous qualities of the organism to be first observed, especially noted because of its usefulness in distinguishing in culture between the near-wilt and wilt Fusaria, was the capacity to produce a type of purple pigmentation not of typical occurrence in a collection of strains of the wilt Fusarium (19). However other strains of the near-wilt fungus were obtained which when first isolated produced little or no pigment, or a flesh color, and on the same culture medium these various strains exhibited not only a range in color extending from no pigment to a very dark shade of purple, but differences in characters of growth.

To record all the shades of color found in strains of the near-wilt Fusarium, even upon the same medium would only serve to demonstrate again the phenomenon of pigmentation variation in single spore cultures that has been illustrated amply in other Fusarium studies (9, 10, 19). It sufficies to note that on a medium high in soluable carbohydrates pigmentation may be lacking, or shades of flesh, orange or lilac predominate, or the depth

of pigment may approach a blackish lavender. Pigmentation may be limited to a ridge of plectenchyma where the agar touches the wall of the test tube or involve the entire plectenchyma, or it may be observed in varying degrees in the aerial mycelium, in the medium, or in both. These variations seem to depend largely upon the stage of culture in which the fungus happens to be, and to its age and previous cultural treatment, and environment. Evidence in support of the view is seen in the following experience: Eleven single spore cultures of Fusarium isolations from pea plants showing near-wilt symptoms, representative of the disease both in Europe and America and of the cultural range of the fungus, were transferred to petri dishes containing acidified potato dextrose agar. The fungi used were California cultures No. 53 and 59, Idaho cultures No. 169 and 234, Wisconsin cultures No. 178 and 184, Maryland cultures No. 5 and 70, Italian culture No. 274, German culture No. 194, and Holland culture No. 275. In making the transfers an attempt was made to select comparable fungus inocula irrespective of the medial source. That is, instead of seeking to obtain as widely different colonies of the fungi as possible by transferring from different types of cultural growth, it was intended to inoculate the plates with that type of colony growth, common to all eleven organisms. At the end of one month the fungi showed a surprising similarity in manner of growth and pigmentation, in spite of the contrasts in previous culture series of an order already described. The mycelium was predominantly white, but the zone of plectenchyma and medium about the point of inoculation was pigmented in a manner uniform for all cultures, and varied only in intensity of the color which approximated ramier blue[1]). Two subsequent plate series were run with the same result. Differences in the relative amount of aerial mycelium were obtained between the fungi as well as within a given strain, but this is a normal expectation. It was possible to find some evidence of zonation in one cultural series or another of all the Fusaria used in this test. These characteristics as well as color are known to be variable qualities of Fusarium culture (1, 3, 4, 5, 13, 15, 19, 32). It is only intended to emphasize here that although it is relatively easy to build up violent contrasts in cultural appearance, even from within one single spore clone, that in the opposite way it is possible to bring the cultural differences into ready agreement. This has been shown by other work (20). To attach species or varietal significance to such fluctuation is to invite confusion.

A summation of some of the macroscopic characters that have been observed with a single spore, tested culture of the near-wilt Fusarium under various conditions of culture and age, follows. Pigmentation on oatmeal agar was approximated by the following colors: none, carmine (acid reaction), various shades of slate-violet, ageratum violet, or ramier blue (alkaline reaction); vinaceous pink, light ochraceous-salmon or flesh color; invisible green and anthracene green (attending sclerotial formation), raisin black, and intermediate and related colors. On rice jasper pink, old rose, eugenia red, nopal red, and carmine have been observed in the acid condition, and madder violet or related shades of purple in the alkaline condition. Odor on rice was sometimes evident in fresh isolations. Zonation also was seen in petri dish cultures under certain conditions. Dark sclerotia have been obtained in abundance but frequently were not found. On stems

[1]) Ridgeway, R., Color standards and nomenclature. Washington, D. C. 1912.

and robinia root the sclerotia were usually first pale or white, but later became flesh color or a light ochraceous-salmon, and finally dark bluish green or dark blue sclerotia appeared. Pionnotes and sporodochia also occurred only in high cultural stages of the fungus. Aerial mycelium was sometimes profuse, fine, and dense or open in its growth, while at other times it was scant or almost lacking and extended in sheets or in strands over the agar surface and on the walls of the test tube. In many respects the near-wilt Fusarium resembles F. oxysporum f. 3 (F. oxysporum v. cubense). F. oxysporum f. 5 (F. oxysporum v. nicotiana) and F. oxysporum f. 6 in its growth characters upon various culture media (13, 31).

Microscopic Characters.

The character of sporulation proved to be an additional aid in the distinction between the wilt and near-wilt Fusaria. Linford (11) found sporulation in the case of the wilt fungus to be generally scant and to consist principally of microconidia. Macroconidia were obtained only very rarely. The near-wilt organism on the otherhand sporulates more freely in respect to both microconidia and macroconidia, even producing pionnotes and sporodochia. The presence or absence of these modes of conidia production, and the morphology of the macroconidia when produced, vary according to the stage of culture and the environment attending the growth of the organism.

In the isolation of the near-wilt fungus obtained directly from placing infested plant tissue in a petri dish containing potato dextrose agar, microconidia tend to predominante. Subsequently, under favorable conditions the fungus may be brought into high culture, while under unfavorable conditions a state of poor culture, in respect to intensity of sporulation, may result. The relative abundance of the different spore forms, and their morphology, largely depends upon that cultural stage into which the fungus emerges. With high culture sporodochia yield short macroconidia typical of F. oxysporum. In an Abkultur or when in a poor cultural condition, the fungus produces no sporodochia but may develop a scant pionnotes or conidial slime consisting of various proportions of micro- and macroconidia. In this case the macroconidia are often long and narrow and not typical of the sporodochial conidia of F. oxysporum. Scattered in the mycelium with microconidia are frequently short macroconidia, but this also varies.

In Figure 2 is shown some of the stages of culture obtained with a tested single spore isolant, No. 53, from California. This Fusarium was isolated in the spring of 1933 and therefore was about a year old when the present studies were begun. The fungus at this time was in poor culture. It produced no sporodochia when transfered to various media, exhibited no signs of sclerotia formation, and yielded only microconidia with a scattering of macroconidia, and even this sporulation was scant. In the course of attempts to bring the organism into high culture according to the technique of Appel and Wollenweber (1) the macroconidia illustrated in Figure 2, a—g, were obtained, without sporodochia. For the most part these conidia were obtained principally upon agar media and were difficult to find in appreciable quantities, although microconidia were plentiful. However in later culture series as high as 36% of 3-septate and 5% of

5-septate conidia developed in light pionnotes upon potato agar. Also light scattering of shorter macroconidia appeared in the mycelium of c tures upon elm stem and robinia root. Finally a high culture with spo:

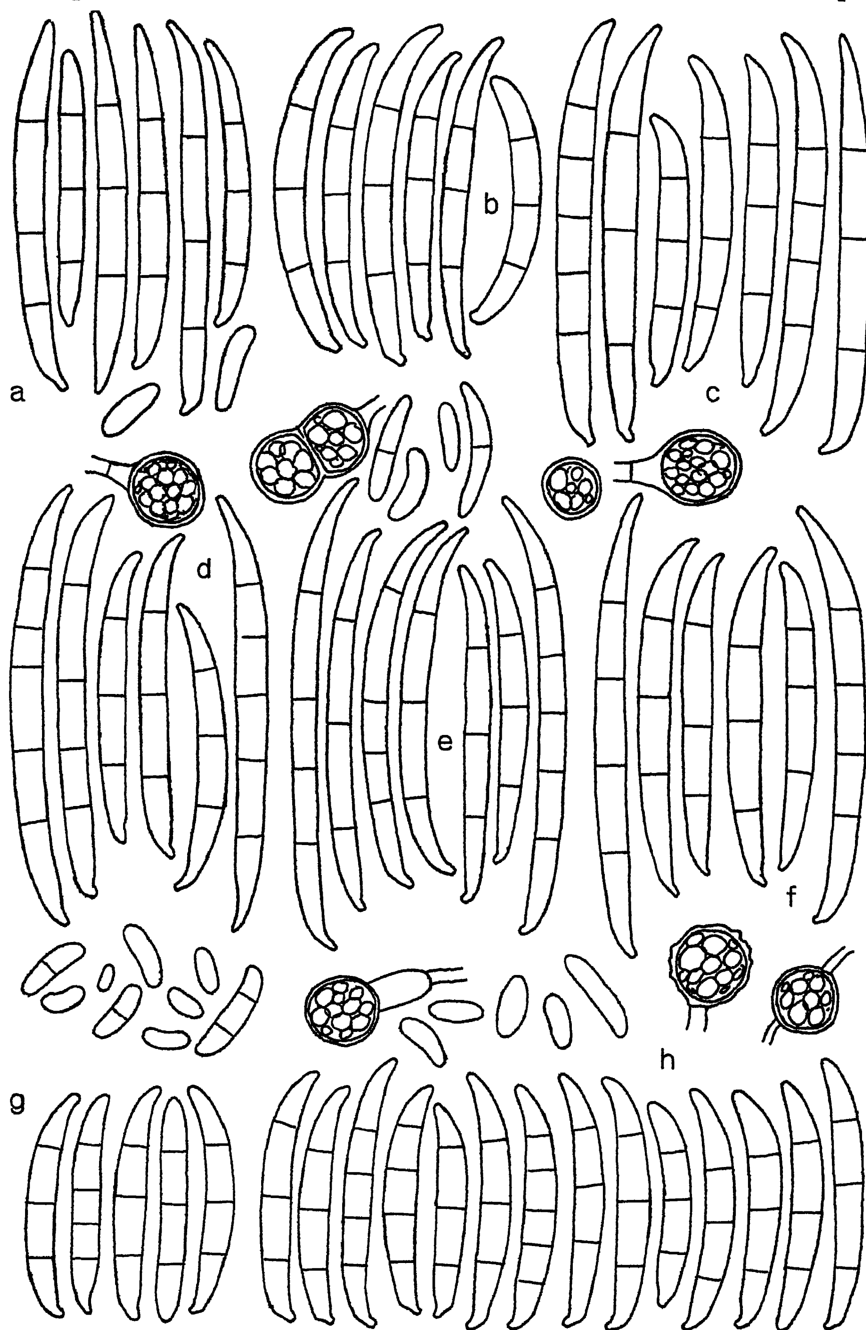


Fig. 2 (Explanation p. 365).

dochia was obtained, conidia of which are shown in Figure 2 h, and also bluish green sclerotia. It is not unusual to obtain such morphologic variation with a single spore culture of a Fusarium, but it is still of importance to take the fact into consideration in making fungus determinations when an organism of this type is in question. Studied in a single cultural stage the fungus might be found to resemble F. orthoceras, F. vasinfectum, F. bulbigenum, F. oxysporum, or F. oxysporum v. aurantiacum, but in high culture to be in agreement only with F. oxysporum. A similar range in conidial types has been shown to occur in F. oxysporum f. 3. and F. oxysporum f. 5 (13). The range in morphology of other isolations is shown in Figures 3 and 4. Figure 3 a—c, shows another California isolation; Figure 3 d—f, an isolation from Wisconsin: Figure 4 a—c, from Maryland and d—f, from Wisconsin. Conidia from a culture received from Dr. F. P. Mehrlich which he reported to the writers in correspondence as being parasitic on peas in Hawaii, are illustrated in Figure 3 g—i, and those from an isolation obtained from peas in Germany by Snyder (21) are shown in Figure 4 g—i. Illustrations of conidia from an Italian isolation from peas are given in another publication (21), but agree with the conidia in Figure 4 d—f. The F. oxysporum found parasitic on peas in Holland (28) has also been examined and appears to be the same as the German isolation. Long spore stages found scattered with microconidia upon the plectenchymae of other cultures isolated in Idaho and Wisconsin and examined in a poor stage of culture correspond to those shown in d—f of Figure 2, and in a, e, and g of Figure 3 and 4.

It is seen that this collection of Fusarium isolations obtained from diseased peas in different parts of the world, and proved to cause essentially the same symptoms in their pathogenesis, agree in their morphology within reasonable limits, when the broad range of conidial type for any one single spore culture is taken into full consideration. According to Wollenwebers (31) taxonomic system, based upon the high cultures of the Fusaria, these fungi fall into the form circle of F. oxysporum, as illustrated by the sporodochial conidia given in Figures 2, 3, and 4, and in the following tabulation of spore measurements. Under some conditions certain strains border on one hand F. vasinfectum with its varieties and forms and in the other F. oxysporum v. aurantiacum, but the same range in conidial type may be demonstrated by the variability in a single spore culture of a single strain, as shown in the Figures and in the tabulation of spore measurements. Owing to the distinctive parasitism of the near-wilt Fusarium of pea. and other minor characters, the fungus is described in this paper as a new form, forma 8, of the species F. oxy-

Fig. 2. Various spore types of the single spore, California culture No. 53 of the near-wilt fungus, F. oxysporum f. 8. In a—f are shown the long narrow macroconidia frequently obtained in small numbers in a pionnotal slime, and in g those found scattered in the aerial mycelium (also with abundant microconidia) of the fungus when not in high culture. Sporodochial conidia of high culture are shown in h and are more typical of the fungus than the preceding long types which are usually in a scattered occurrence and in old cultures. a, scattered on oatmeal agar after 19 days; b, scattered in mycelium on robinia root after 35 days; c, scattered on oatmeal after 35 days; d, scattered on potato agar after 46 days; e, in light pionnotal slime on potato agar after 54 days; f, scattered on oatmeal agar after 46 days; g, scattered in mycelium on elm stem after 41 days; h, in sporodochia on robinia root after 2 months. All 1000×.

sporum. The description is based upon isolants obtained from peas infected with the near-wilt disease in America that have been tested for pathogenicity as described earlier in this paper. The isolants from other parts

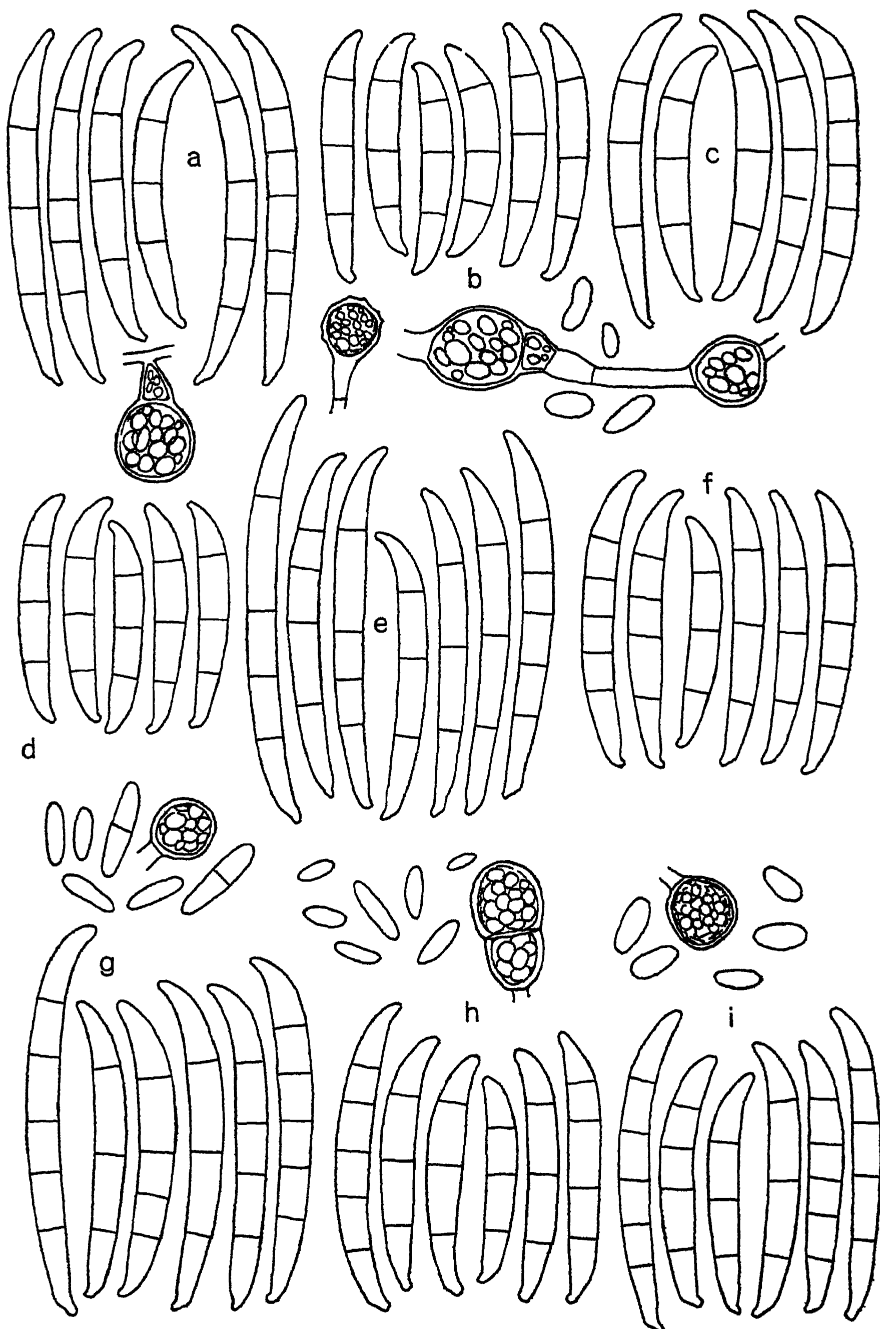


Fig. 3 (Explanation p. 367).

of the world treated here are also placed as F. oxysporum f. 8, although comparative pathogenicity data is not yet complete, since these organisms are morphologically similar and have been shown capable of infecting peas (21, 28).

The following tabulation contains the average measurements of macroconidia obtained from single spore cultures of Fusaria isolated from pea plants showing symptoms of the near-wilt disease (St. Johns wilt in Europe), representing growth on various media and in different stages of culture. The use of the same medium more than once for a given fungus indicates other culture series. All measurements through out this paper are given in microns:

California Culture No. 52.

On potato agar after 42 days. Conidia scattered in white mycelium.
3-septate: 29.2 × 4.3 (26—34 × 3.7—4.5)

On oatmeal agar after 33 days. Conidial masses on a bluish plectenchyma. Dark sclerotia present and an odor detected.
3-septate: 39.6 × 3.8 (34—48 × 3.2—4.6)
4-septate: 45.6 × 4.0 (42—49 × 3.8—4.5)
5-septate: 46.0 × 4.1 (43—50 × 3.9—4.3)

On elm stem after 42 days. Conidia in warm buff sporodochia. Small dark sclerotia present.
3-septate: 38.0 × 4.5 (31—44 × 3.8—5.7) 90%
4-septate: 40.5 × 4.5 (37—44 × 4.0—4.8) 10%

On barley ear after 42 days. Conidia in warm buff sporodochia.
3-septate: 31.2 × 4.4 (27—37 × 4.0—4.8)

On robinia root after 33 days. Conidia in warm buff sporodochia.
3-septate: 36.5 × 4.4 (30—42 × 4.2—4.8) 68%
4-septate: 36.7 × 4.3 (33—40 × 4.2—4.5) 4%
5-septate: 37.5 × 4.5 (35—40 × 4.3—4.7) 2%

On lupine stem after 33 days. Conidia in warm buff to salmon color sporodochia. Pale sclerotia forming.
3-septate: 39.3 × 4.5 (33—43 × 3.8—5.0) 63%
4-septate: 43.0 × 4.5 (42—45 × 4.2—4.8) 32%
5-septate: 44.0 × 4.2 (42—44 × 3.8—4.4) 4%

Average of the above measurements.
3-septate: 35 × 4.3
4-septate: 41 × 4.3
5-septate: 42 × 4.3

California Culture No. 53.

On potato agar after 54 days. Conidia in a light pionnotes[1]).
3-septate: 45.8 × 3.2 (40—52 × 2.8—3.6) 36%
4-septate: 53.4 × 3.4 (44—63 × 3.3—3.5) 1%
5-septate: 57.3 × 3.4 (55—58 × 3.4—3.6) 1%

On oatmeal agar after 46 days. Conidia in a light pionnotes[1]).
3-septate: 46.0 × 4.0 (35—59 × 3.5—4.5)
4-septate: 56.0 × 4.0 (51—62 × 3.8—4.2)
5-septate: 64.0 × 4.2 (56—71 × 3.8—4.5)

---

[1]) These conidia were obtained from cultures in a poor and staled condition and are not typical of conidia from a normal high culture. They are therefore given only half weight in the average measurements for the fungus. These figures are recorded here only that they may aid in the determination of the fungus when it is studied in a similar condition of culture.

Fig. 3. Some conidial types occurring in various strains of the nearwilt fungus, F. oxysporum f. 8 a—c, California culture No. 52; d—f, Wisconsin culture No. 73; g—i, Hawaii culture No. 771. a, in spore masses on oatmeal after 27 days; b, in sporodochia on barley ear after 42 days; c, in sporodochia on lupine stem after 33 days. d, on elm stem after 42 days; e, in light pionnotes on oatmeal agar after 70 days; f, sporodochia on potato agar after 10 days. g, in pionnotes on potato plug after 33 days; h, in sporodochia on robinia root after 70 days; i, sporodochia on robinia root after 33 days. All 1000×.

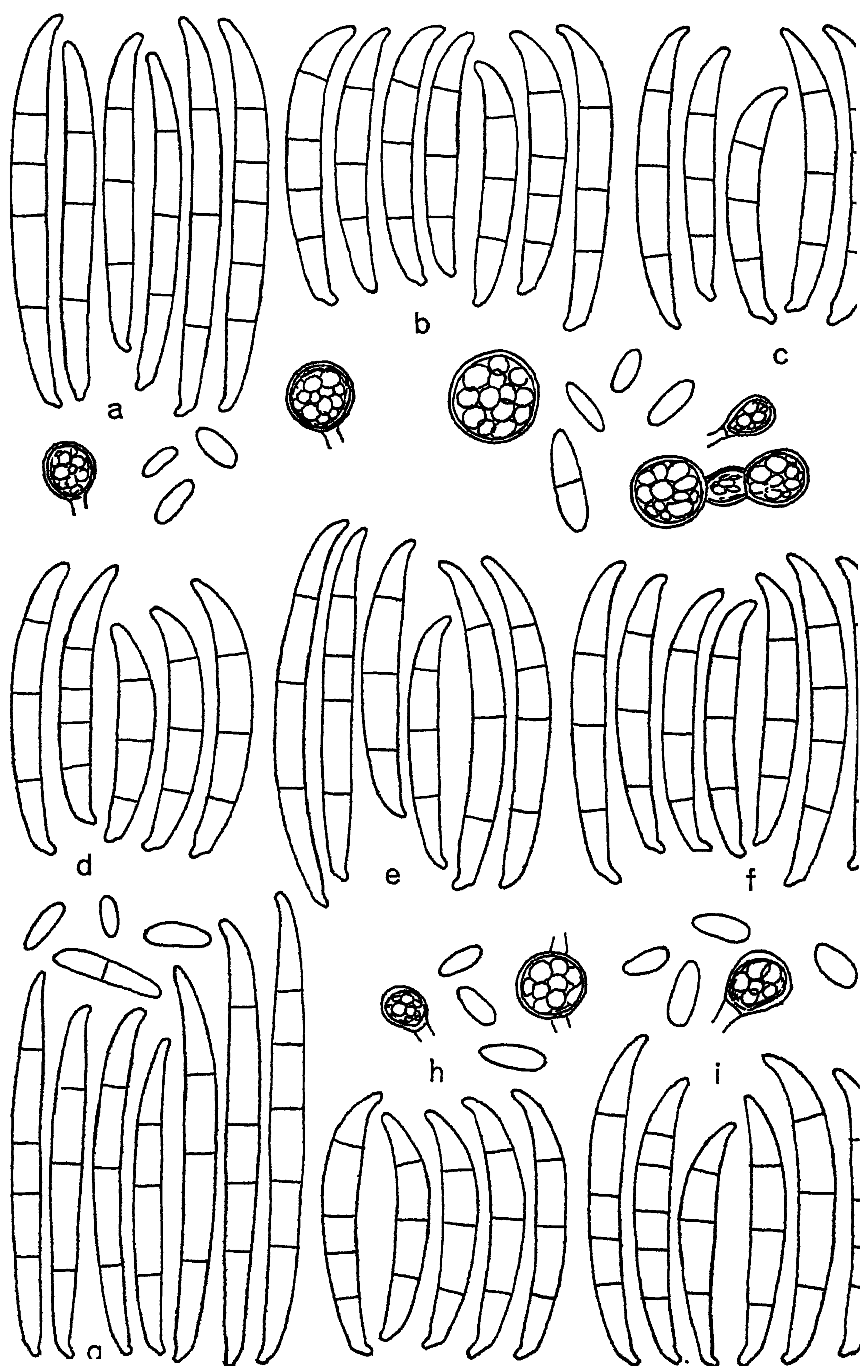


Fig. 4 (Explanation p. 369).

On elm stem after 41 days. Conidia scattered in white mycelium.
3-septate: 28.6 × 3.6 (25—32 × 3.2—4.2) 8%
On robinia root after 60 days. Conidia in warm buff sporodochia. Small dark sclerotia present.
3-septate: 32.9 × 4.1 (27—37 × 3.5—4.5) 74%
4-septate: 33.3 × 4.2 (31—37 × 4.0—4.5) 5%
5-septate: 33.0 × 4.3 (31—38 × 4.0—4.5) 2%
Average of the above measurements.
3-septate: 35.8 × 3.8
4-septate: 43.7 × 4.0
5-septate: 46.5 × 4.1

California Culture No. 58.

On potato agar after 50 days. Conidia in light pionnotes.
3-septate: 34.4 × 4.0 (26—41 × 3.6—4.2) 18%
4-septate: 40.0 × 4.1 1%
On potato agar after 46 days. Conidia in light pionnotes.
3-septate: 40.5 × 4.2 (28—49 × 3.8 × 4.5) 22%
4-septate: 48.0 × 4.4 1%
On oatmeal agar after 47 days. Conidia in light pionnotes.
3-septate: 35.5 × 4.0 (27—42 × 3.4—4.2) 3%
4-septate: 42.0 × 4.2 1%
On robinia root after 35 days. Conidia in warm buff sporodochia.
3-septate: 38.6 × 3.9 (33—44 × 3.7—4.2) 58%
4-septate: 41.8 × 4.0 (38—44 × 3.8—4.3) 31%
5-septate: 43.0 × 4.0 1%
Average of the above measurements.
3-septate: 37.2 × 4.0
4-septate: 42.9 × 4.2
5-septate: 43.0 × 4.0

California Culture No. 59.

On potato agar after 41 days. Conidia scattered in white mycelium.
3-septate: 31.2 × 3.8 (28—40 × 3.5—4.0) 1%
On elm stem after 42 days. Conidia in warm buff sporodochia.
3-septate: 33.4 × 4.2 (30—40 × 3.8—4.5)
4-septate: 41.3 × 4.3 (39—45 × 4.0—4.5)
On robinia root after 20 days. Conidia in warm buff to salmon color sporodochia. Small pale sclerotia forming.
3-septate: 35.0 × 3.9 (25—40 × 3.5—4.3) 62%
4-septate: 41.0 × 4.0 (35—45 × 3.7—4.2) 36%
5-septate: 42.0 × 4.0 1%
On robinia root after 20 days Conidia in warm buff to salmon color sporodochia.
3-septate: 34.3 × 4.0 (30—39 × 3.7—4.5)
4-septate: 40.0 × 4.2 (38—41 × 4.0—4.3)
Average of the above measurements.
3-septate: 33.5 × 4.0
4-septate: 38.1 × 4.1

Massachusetts Culture No. 72.

On oatmeal agar after 27 days. Conidia in warm buff to salmon color spore masses. Plectenchyma a dark violet color.
3-septate: 32.5 × 4.1 (30—35 × 3.7—4.3)
4-septate: 35.0 × 4.3
5-septate: 33.0 × 4.3

Fig. 4. Some conidial types occurring in various strains of the near-wilt fungus, F. oxysporum f. 8. a—c, Maryland culture No. 5; d—f, Wisconsin culture No. 178; g—i, German culture No. 194. a, scattered on oatmeal agar after 50 days; b, in sporodochia on oatmeal after 35 days; c, scattered in mycelium on robinia root after 30 days. d, in sporodochia on barley ear after 72 days; e, in sporodochia on oatmeal after 40 days; f, in sporodochia on robinia root after 18 days. g, in pionnotes on potato agar after 23 days; h, in sporodochia on barley ear after 30 days; i, in sporodochia on robinia root after 42 days. All 1000×.

Wisconsin Culture No. 73.

On potato agar after ten days. Conidia in warm buff to isabella color spore masses.

3-septate: 35.7 × 3.9 (31—38 × 3.4—4.2) 80%
4-septate: 38.0 × 4.1 (35—40 × 3.7—4.2) 8%
5-septate: 40.5 × 4.2 (37—42 × 3.8—4.5) 2%

On oatmeal agar after 33 days. Conidia in pionnotes on dull bluish green plectenchyma.

3-septate:g36.2 × 4.2 (33—43 × 3.8—4.5)
4-septate: 38.0 — 4.2
5-septate: 48.0 × 4.4

On oatmeal agar after 75 days. Conidia in warm buff pionnotes.

3-septate: 42.3 × 3.8 (36—44 × 3.2—4.2)
4-septate: 47.0 × 3.8 (44—49 × 3.6—4.0)
5-septate: 50.3 × 3.9 (48—52 × 3.7—4.2)

On elm stem after 42 days. Conidia in warm buff to salmon color sporodochia. Small dark sclerotia present.

3-septate: 30.1 × 4.1 (25—35 × 3.6—4.4)

On robinia root after 10 days. Conidia in vinaceous — cinnamon sporodochia.

3-septate: 39.5 × 4.2 (37—42 × 3.9—4.5) 82%
4-septate: 45.5 × 4.0 16%
5-septate: 50.0 × 4.3 1%

Average of the above measurements.

3-septate: 37.3 × 4.0
4-septate: 46.0 × 3.9
5-septate: 50.0 × 4.1

Wisconsin Culture No. 177.

On robinia root after 25 days. Conidia in salmon color sporodochia. Sclerotia present in agar cultures.

3-septate: 32.0 × 4.2 (27—41 × 3.5—4.8)

Wisconsin Culture No. 178.

On potato agar after 40 days. Conidia in light pionnotes on a dark lavender plectenchyma.

3-septate: 32.4 × 4.5 (27—37 × 4.2—5.4)

On oatmeal agar after 35 days. Conidia in warm buff spore masses on a dark lavender plectenchyma. Pale to dark sclerotia present. Odor detected.

3-septate: 35.3 × 3.9 (31—42 × 3.2—4.2) 39%
4-septate: 42.2 × 4.0 (38—47 × 3.8—4.3) 28%
5-septate: 38.0 × 4.1 5%

On oatmeal agar after 2 months. Conidia in warm buff spore masses. Small dark sclerotia.

3-septate: 38.9 × 4.3 (26—52 × 3.8—4.8) 82%
4-septate: 37.0 × 4.1 (30—47 × 4.0—4.2)
5-septate: 40.0 × 4.2

On barley ear after 72 days. Conidia in salmon color sporodochia. Dark sclerotia present.

3-septate: 31.0 × 4.2 (30—39 × 3.8—4.5) 90%
4-septate: 33.0 × 4.3 (30—36 × 4.2—4.5)

On robinia root after 30 days. Conidia in salmon color sporodochia.

3-septate: 35.0 × 4.4 (30—38 × 3.8—4.8) 94%
4-septate: 33.0 × 4.6 2%
5-septate: 40.0 × 4.5 1%

On robinia root after 18 days. Conidia in warm buff to salmon color sporodochia.

3-septate: 39.2 × 4.2 (32—51 × 4.0—4.8)
4-septate: 41.0 × 3.9 (38—44 × 3.7—4.2)
5-septate: 42.7 × 4.2 (41—44 × 4.0—4.5)

Average of the above measurements.

3-septate: 35.3 × 4.2
4-septate: 37.3 × 4.2
5-septate: 40.2 × 4.2

Maryland Culture No. 5.

On potato agar after 30 days. Conidia scattered on purple plectenchyma[1]).
3-septate: 43.8 × 3.5 (39—52 × 3.0—3.8)
4-septate: 49.0 × 3.4
5-septate: 49.0 × 3.4 (a single conidium measured)

On oatmeal agar after 50 days. Conidia scattered in light pionnotes on purple plectenchyma.
3-septate: 40.0 × 3.7 (26—48 × 3.5—4.2) 3%
4-septate: 51.0 × 4.3 1%

On rice after 45 days. Conidia scattered in white mycelium.
3-septate: 33.0 × 4.0

On robinia root after 15 days. Conidia in white mycelium.
3-septate: 31.0 × 4.0 (28—38 × 3.5—4.4)
4-septate: 39.0 × 4.0

On robinia root after 30 days. Conidia in warm buff sporodochia.
3-septate: 35.4 × 4.2 (28—42 × 3.7—4.7)
4-septate: 38.0 × 4.2 (33—42 × 3.8—4.5)
5-septate: 42.0 × 4.3

Average of the above measurements.
3-septate: 36.6 × 3.9
4-septate: 44.2 × 4.0
5-septate: 44.3 × 4.0

Hawaii Culture No. 171.

On potato agar after 33 days. Conidia scattered in white mycelium.
3-septate: 37.7 × 3.9 (33—41 × 3.7—4.2)
4-septate: 41.0 × 4.0 (38—44 × 3.8—4.2)

On oatmeal agar after 33 days. Conidia in warm buff pionnotes on a lilac plectenchyma.
3-septate: 43.0 × 4.3 (35—50 × 3.8—4.5) 12%
4-septate: 53.0 × 4.5 11%
5-septate: 52.4 × 4.4 (44—57 × 3.8—4.8) 11%

On potato stem after 33 days. Conidia in warm buff to salmon color pionnotes.
3-septate: 36.2 × 4.2 (34—40 × 4.0—4.5) 61%
4-septate: 38.5 × 4.4 (34—44 × 4.2—4.7) 17%
5-septate: 48.0 × 4.5 10%

On potato plug after 33 days. Conidia in salmon — ochraceous pionnotes.
3-septate: 41.0 × 4.1 (37—44 × 3.9—4.3) 15%
4-septate: 44.0 × 4.2 (40—48 × 3.9—4.5) 13%
5-septate: 49.5 × 4.1 (48—53 × 4.0—4.3) 13%

On robinia root after 33 days. Conidia in warm buff to salmon color sporodochia.
3-septate: 34.3 × 4.0 (32—37 × 3.9—4.3) 30%
4-septate: 39.8 × 4.0 (33—42 × 3.7—4.3) 38%
5-septate: 45.5 × 4.0 (37—51 × 3.8—4.3) 32%

On robinia root after 3 months. Conidia in salmon color sporodochia.
3-septate: 33.1 × 4.2 (30—35 × 3.8—4.5)
4-septate: 37.5 × 4.2
5-septate: 42.0 × 4.2

Average of the above measurements.
3-septate: 37.4 × 4.1
4-septate: 42.6 × 4.2
5-septate: 47.5 × 4.2

In some cultural stages this fungus has closely resembled F. oxysporum v. aurantiacum.

German Culture No. 194.

On potato agar after 23 days. Conidia in light pionnotes on purple plectenchyma[1]).
3-septate: 45.8 × 3.6 (38—53 × 3.2—4.0)
4-septate: 54.2 × 3.8 (51—59 × 3.3—4.2)
5-septate: 59.0 × 4.0 (55—63 ×

[1]) See footnote [1]) on page 367.

On oatmeal agar after 4 days. Conidia in salmon color sporodochial masses. Dark sclerotia present.

3-septate: 36.0 × 4.2 (33—42 × 3.8—4.5) 70%
4-septate: 35.2 × 4.2 (32—38 × 4.0—4.4) 28%
5-septate: 40.3 × 4.5 (38—44 × 4.3—4.7) 2%

On barley ear after 30 days. Conidia in salmon color sporodochia.

3-septate: 34.6 × 4.1 (30—41 × 3.7—4.5) 93%
4-septate: 38.2 × 4.1 (34—41 × 3.8—4.5) 6%
5-septate: 41.0 × 4.2 1%

On robinia root after 42 days. Conidia in warm buff to salmon color sporodochia.

3-septate: 36.7 × 4.3 (32—38 × 4.0—4.8) 84%
4-septate: 39.6 × 4.2 (38—44 × 4.0—4.5) 14%
5-septate: 45.0 × 4.2

Average of the above measurements.

3-septate: 37.2 × 4.1
4-septate: 44.0 × 4.1
5-septate: 44.5 × 4.2

Holland Culture No. 275.

On potato agar after 18 days. Conidia in light salmon color pionnotes.

3-septate: 40.3 × 4.3 (34—47 × 3.8—5.2)
5-septate: 51.3 × 4.5 (45—55 × 4.0—5.0)

On oatmeal agar after 25 days. Conidia in pionnotes on purple plectenchyma.

3-septate: 39.0 × 4.2 (29—47 × 3.8—5.0) 92%
4-septate: 48.6 × 4.3 (44—52 × 4.0—4.5) 4%

On oatmeal agar after 25 days. Conidia in pionnotes on purple plectenchyma.

3-septate: 41.0 × 3.7 (31—49 × 3.5—4.3)
4-septate: 41.0 × 4.0 (38—48 × 3.8—4.5)

Average of the above measurements.

3-septate: 40.0 × 4.1
4-septate: 46.9 × 4.2

These average measurements for the Holland culture include no measurements of sporodochial conidia and are not as representative of the fungus as those given by Went (28) for the same culture:

3-septate: 36.2 × 3.9 (28.0—43.7 × 3.5—4.3)
5-septate: 43.5 × 4.5 (38.5—49.0 × 4.0—4.9)

Italian Culture No. 274.

On potato agar after 12 days. Conidia in salmon color spore masses. Odor present.

3-septate: 35.9 × 4.1 (32—42 × 3.8—4.3)
4-septate: 37.8 × 4.2 (34—42 × 4.2)
5-septate: 42.0 × 4.2

On acidified potato agar after 20 days. Conidia in salmon color sporodochial masses.

3-septate: 41.7 × 4.2 (35—51 × 3.8—4.7) 82%
4-septate: 47.0 × 4.4 (45—49 × 4.4) 3%

On oatmeal agar after 3 months. Conidia in warm buff to salmon color spore masses. Dark sclerotia present and traces of purple plectenchyma.

3-septate: 41.4 × 3.7 (34—53 × 3.4—4.3) 84%
4-septate: 49.4 × 3.7 (43—57 × 3.3—4.2) 14%
5-septate: 49.5 × 3.9 (45—54 × 3.8—4.0) 2%

On oatmeal agar after 66 days. Conidia in warm buff to salmon color spore masses. Small dark blue sclerotia present.

3-septate: 33.2 × 4.1 (27—34 × 3.8—4.5) 88%
4-septate: 37.5 × 4.2 (33—43 × 4.0—4.5) 4%

On oatmeal agar after 12 days. Conidia in salmon color spore masses. Odor present.

3-septate: 37.0 × 3.8 (33—44 × 3.7—4.3)
4-septate: 39.0 × 4.0 (38—44 × 3.8—4.2)

On robinia root after 30 days. Conidia in salmon color sporodochia.

3-septate: 35.1 × 4.4 (30—38 × 3.8—4.7) 80%
4-septate: 38.3 × 4.5 (34—44 × 4.3—4.7) 5%
5-septate: 40.0 × 4.3 1%

On robinia root after 14 days. Conidia in salmon color sporodochia.
3-septate: 32.7 × 3.8 (29—37 × 3.6—4.0)
On barley ear after 3 months. Conidia in warm buff to salmon color sporodochia. Numerous dark sclerotia present.
3-septate: 36.0 × 4.1 (30—50 × 3.5—4.5)
4-septate: 39.0 × 4.0
5-septate: 41.0 × 4.2
Average of the above measurements.
3-septate: 36.6 × 4.0
4-septate: 41.1 × 4.1
5-septate: 43.1 × 4.2
Other characteristics of this Italian culture are treated elsewhere (21).
The averages of the average measurements and the ranges of these measurements, for all of the above American cultures each of which has been tested in respect to the near-wilt disease, are as follows:
3-septate: 35.1 × 4.0 mostly 32—38 × 3.8—4.3 (25—59 × 2.8—5.0)
4-septate: 40.7 × 4.1 mostly 33—46 × 3.9—4.3 (30—63 × 3.3—5.0)
5-septate: 42.4 × 4.2 mostly 35—50 × 4.0—4.3 (35—71 × 3.4—5.0)
The averages of the average measeurments for those cultures other than from America are as follows.
3-septate: 37.3 × 4.0
4-septate: 41.2 × 4.1
5-septate: 44.8 × 4.3.

Although these fungi were for the most part recent isolations and therefore in better cultural condition than most of the American cultures, the average measurements are in agreement with those from America, and all isolations fall within the form circle of F. oxysporum as given by Wollenweber (31). Owing to the fact that the fungus dealt with is an important parasite of peas, whereas other cultures of F. oxysporum or its forms have been found non-parasitic on peas (8), the near-wilt Fusarium has been described by Snyder as a new form, forma 8, of this species. Fusarium oxysporum Schlecht. f. 8 Snyder:

Aerial mycelium abundant to scant, fine and dense or loose and fluffy, sometimes in strands, white, to orange or flesh, to lavender or lilac. Plectenchyma smooth to somewhat erumpent, or leathery, or lacking, colorless to ochraceous to flesh or orange, to lavender or lilac, or dark slate. Pigmentation throughout plectenchyma and aerial mycelium, or in zones, or where the fungus comes in contact with the wall of the test tube; pigment may or may not be diffused into the medium. Color on rice in various intensities of red (in acid modification) to various intensities of purple (in alkaline modification). Pionnotes copious, or scant, sometimes lacking; sporodochia not always present, warm buff, orchraceous, salmon, flesh, cinnamon, to orange. Microconidia to 100% in mycelium or pionnotes to none in sporodochia, predominantly O-septate, commonly 1-septate, less frequently 2-septate. Macroconidia to 100% in sporodochia, mostly 3-septate, commonly 4-septate, less frequently 5-septate, 6—7- and 1—2-septate rare. Average measurements: 3-septate 35.1 × 4.0 (32—38 × 3.8—4.3) to 100%, 4-septate 40.7 × 4.1 (33—46 × 3.9—4.3) to 38 percent, 5-septate 42.4 × 4.2 (35—50 × 4.0—4.3) to 12 percent, in exceptional cases more. In sporodochia macroconidia tend to be short, while in mycelium or pionnotes especially of old or mycelial cultures, macroconidia may be of a short or a long narrow type. Sclerotia frequently absent, sometimes abundant, white to cream to flesh, to shades of blue or green, or blue-green; 0.5 to 2, again 2—5 mm diam. Odor now present, now absent. Chlamydospores common, in mycelium and in conidia, terminal and intercalary. Mycelial

chlamydospores 4 to 14 in diameter. Habitat in the vascular system of root and stem of pea, Pisum sativum, which it parasitizes causing a wilt disease. Found in the United States, Germany, Italy, Holland, Hawaii, and probably other regions in pea culture.

Latin Description.

Fusarium oxysporum Schlechtendahl forma 8 Snyder.

Syn. Fusarium vasinfectum Atk v. pisi van Hall. Die Sankt Johanniskrankheit der Erbsen verursacht durch Fusarium vasinfectum Atk., Ber Dtsch. Bot. Ges. Bd. 21. 1903. S. 2—5, ic. — Fusarium oxysporum cfr. Went J. C. Fusarium Aantastingen van Erwten Drukkery Hoeijembos & Co N. V. Utrecht, 1934. — F. oxysporum v. aurantiacum aut. var. non (Link.) Wr.

A typo praesertim recedit parasitismo contra genus Pisum, familiae Leguminosarum. Conidia 3- (4—5-), rarissime 1—2-, 6—7-septatis: 3-sept. 35.1 × 4 (32—38 × 3.8—4.3): 5-sept. 42.4 × 4.2 (35—40 × 4.0—4.5) microns, in sporodochiis vulgo brevioribus quam in pionnote et mycelio. Sclerotiis plusminusve frequentibus 0.5—2—5 mm diam., globosis cremeis, incarnatis vel coeruleo-aerugineis, interdum absentibus. Chlamydosporis globosis vel piriformibus, terminalibus aut intercalaribus 4—14 micr. diam.

Habitat endobiotice in fasciculis fibrovascularibus caulium plantarum flaccidarum, epibiotice ad epidermidem caulis necati Pisi sativi in Europa et America boreali. Fungus Pisis maladiam perniciosam („St. Johns-, St. Johannis-Krankheit, near-wilt“ dictam) affert.

Discussion.

Variability in the macroscopic characters, in the microscopic morphology, and in the physiology of members of the genus Fusarium has been recognized frequently where intensive study of the Fusaria has been made (1, 3, 4, 5, 8, 9, 10, 13, 15, 16, 19, 20, 30, 31, 32). Such variability may extend over a broad range as illustrated (19, 20) in the case of the two pea parasites F. orthoceras v. pisi and F. solani v. Martii f. 2, or be reduced to a minimum as has been demonstrated (2) for the cabbage yellows pathogen F. conglutinans Wr. When variability in the characters of a parasitic organism is pronounced, a number of distinct cultural stages may be represented in a series of isolants giving the impression of different identities, at least until a thorough taxonomic study of the isolants has been made. This experience is not peculiar to the genus Fusarium nor indeed to fungi. Recently Wilson (29) has encountered the same phenomenon in the case of a bacterial parasite. He has suggested that such variability within an organism has tended to delay progress with the disease concerned through confusion brought about by the apparent existence of several organisms in association with the same disease. This no doubt has been true of the near-wilt disease of pea.

In surveying the range of variability in the macroscopic characteristics and in the morphology of the microscopic characters of the near-wilt Fusarium, F. oxysporum f. 8, that has been treated in this paper, emphasis is given to the variability that may be encountered within a clone derived from a single spore. By a single spore culture ist not meant a culture obtained by selecting an apparently single colony from a dilution plate, but the isolation and transfer with the aid of the microscope of a single co-

nidium. The nature of the present work made it fundamental to the interpretation of results that all cultures be so prepared. for it seemed at the outset that more than one fungus might be involved.

In the study of the range in fungal characters obtained through culture manipulation of several single spore clones over the period of a year, no logical evidence has been forth coming that the American near-wilt Fusaria used in this work represent more than one organism. This organism has been described as F. oxysporum f. 8 in order to distinguish it from other oxysporum possessing different physiologic qualities. The size of the form circle described for forma 8 is commeasureate with the range in fungal characters manifest by a single spore clone from a single strain of a pathogenic culture. This range has been obtained however from more than one such clone and from more than one region, for example California, Wisconsin, and Maryland. All other tested isolations from American near-wilt plants used in this study, have fallen within the range described here. The European isolants from peas showing near-wilt symptoms (St. Johns wilt in Europe) also have been found to agree morphologically with the American fungus, and since they are capable of causing a vascular wilt of pea have been placed also as F. oxysporum f. 8. The European strains of the fungus show the same variability in macroscopic and microscopic characters that is true of the American strains.

When first isolated, F. oxysporum f. 8 is usually in a mycelial stage and does not produce sporodochia unless manipulated with the purpose of bringing it into high culture. In ordinary procedure mycelial transfers are made and such have constituted the bulk of the cultures used in the study dealt with in this paper. As a result the collection of near-wilt Fusaria was represented by various stages of culture some of which convincingly gave the impression of being distinct fungi. Considerable time and culturing was required to bring these fungi to the production of sporodochia, sclerotia, and other characters. Although even sporodochial macroconidia from a single spore clone may vary considerably in size from one time to another (20) they still afford a more satisfactory basis for the comparison of different isolants than do the miscellaneous stages of sporulation in which a group of culture happens to be. Since in high culture fungal characters appeared which before had not been observed, several high cultures were subjected to the reverse of Appel and Wollenweber (1) technique for securing high culture in order to get the fungus in poor culture or an old condition for comparison with the original stock cultures. The recovery of the former fungal characters with the disappearance of the newly acquired characteristics constituted an additional check upon the identity of the culture and the range of its form circle.

Cultures not in a high condition of sporulation, particularly if they are old, are frequently very difficult to bring into sporodochia production, more difficult than has been encountered (20) in similar attempts with old cultures of Fusaria of the section Martiella. In Figure 2 has been illustrated a culture which for many months yielded no sporodochia and only long narrow spores of various dimensions, with of course numerous microconidia which are almost always present. This variety of long conidial types is pictured here owing to the fact that often these are the only macroconidia obtained when sporodochia are lacking, occurring in scant pionnotes, although short small macroconidia may be found in their stead or scattered

in the mycelium; but from the taxonomic standpoint these long macroconidial types can not be considered typical, for the taxonomy is based principally upon the fungus characters found in high culture, in which the conidial characteristics of the sub-section Oxysporum predominate. These less typical spore forms are given that they may be an aid in determination where a high culture has not yet been developed. They are frequently encountered in other forms and varieties of this species under some conditions.

With the detection of near-wilt and the determination of the fungus causing it, pea growers must contend with two known, major wilt diseases caused by vascular Fusaria of the Section Elegans, namely wilt due to F. orthoceras v. pisi, and near-wilt caused by F. oxysporum f. 8. There are other so-called "wilts" of pea but they are not primarily vascular wilts in the usual sense of the term and have been ascribed to Fusaria of other sections (14, 22, 23, 24, 28). It is, however, certainly a possibility that other vascular Fusaria of the Elegans type may be discovered upon pea or be present now. Clearly the near-wilt disease was in general occurrence prior to its recognition. In any event it is to be expected that F. oxysporum f. 8, whose form circle on one hand extends to F. vasinfectum with its varieties and forms, and on the other hand to F. oxysporum v. aurantiacum, when all stages of culture are considered, may show some variation in pathogenicity. Differences in virulence between strains of the pea parasites F. solani v. Martii f. 2 and F. orthoceras v. pisi are known to exist (8, 19, 20), and it has been suggested (16) that certain strains of the watermelon wilt fungus, F. bulbigenum Cka. et Mass. v. niveum (Frw. Sm.) Wr., may be capable of parasitizing lines of the host plant which have been proven resistant to other strains of these fungi. Brown (4) has found differences in virulence between the culture stages of a single spore line of F. lateritium Nees v. fructigenum (Fr.) Wr. With the variability that has been shown to be the case in F. oxysporum f. 8, and with its occurrence in widely different environments of the world, physiological differences between various strains as expressed by parasitism would not be surprising.

Until a more definite means of control for near-wilt is found, attention may be given to the experience gained from studies of other vascular Fusarium diseases. It seems desirable therefore that seed for planting be obtained from disease free fields as far as is practicable and that ordinary sanitation practices be followed in delaying the introduction of the parasite into healthy fields or at least, where it is already present, in preventing an increase in the concentration of the inoculum. A suitable crop rotation also would appear to be a means of escaping the more rapid multiplication of a soil-borne parasite that often attends continuous cultivation of the same crop.

Summary.

A pathologic and taxonomic account is given of the near-wilt disease of pea, and its cause, a vascular Fusarium of the Section Elegans, F. oxysporum f. 8 Snyder.

The name "near-wilt" is used to distinguish this disease from the other major vascular Fusarium disease of pea in America which it closely resembles, known as "wilt", caused by F. orthoceras v. pisi. The Euro-

pean vascular Fusarium disease, referred to as "St. John's wilt", appears to be the same in symptoms and cause as the American near-wilt, produced by F. oxysporum f. 8.

Symptoms of near-wilt are similar to those of wilt. The foliage becomes yellowish, the leaflets and stipules tend to curl backward, and wilting of the plant, usually beginning with a withering of the lower leaves generally takes place about blossoming time or earlier, resulting in premature death. The root and lower stem may or may not show slight outward signs of disease, and even the usual orange or reddish discoloration of the vascular system which is more typical for the disease may be lacking under certain conditions.

The near-wilt fungus F. oxysporum f. 8, attacks pea varieties that are 100% resistant as well as those susceptible to invasion by the wilt organism, F. orthoceras v. pisi. This fact in addition to its widespread distribution emphasizes the menace of F. oxysporum f. 8 to pea culture. Considerable damage from the American near-wilt and the European St. John's wilt was witnessed in the 1934 seasons.

Considerable variation in cultural behavior of F. oxysporum f. 8 was found, including kind and intensity of pigmentation, manner of growth, and the presence or absence of sclerotia and sporodochia, depending upon the age and condition of the culture and the environmental conditions to which it was subjected.

Variability was encountered also in the microscopic characters of F. oxysporum f. 8. Under certain cultural conditions long narrow macroconidia were produced which might be confused readily with other species of Fusaria, yet after brought into high sporodochial sporulation all cultures fell within the form circle of F. oxysporum.

By the manipulation of several single spore strains of the fungus during the course of a year, a range in cultural characters of each was obtained representative of the form circle described for F. oxysporum f. 8, which borders upon both F. vasinfectum and F. oxysporum v. aurantiacum. It is to be expected that differences in pathogenesis may attend this variability in cultural behavior.

The use of seed from disease-free pea fields, ordinary sanitation practices, and the adherence to a suitable crop rotation, are suggested as precautionary measures against the destructive establishment of the near-wilt disease.

Literature cited.

1. Appel, O. und Wollenweber, H. W., Grundlagen einer Monographie der Gattung Fusarinm (Link.). (Arb. Biol. Reichsanstalt f. Land- u. Forstw., Berlin-Dahlem. Bd. 8. 1910. S. 1—207.) — 2. Blank, L. M., Uniformity in pathogenicity and cultural behavior among strains of the Cabbage-yellows organism. (Journ. Agr. Res. Vol. 48. 1934. p. 401—409.) — 3. Brown, W., Studies in the genus Fusarium. II. An analysis of factors which determine the growth of certain strains. (Ann. Bot. Vol. 39. 1925. p. 373—408.) — 4. Brown, W., Studies in the genus Fusarium. VI. General description of strains together with a discussion of the principles at present adopted in the classification of Fusarium. (Ann. Bot. Vol. 42. 1928. p. 285—304.) — 5. Brown, W., and Horne, A. S., Studies in the genus Fusarium. III. An analysis of factors which determine certain microscopic features of Fusarium strains. (Ann. Bot. Vol. 40. 1926. p. 203—221.) — 6. Hall, J. C. van, Die Sankt Johannis-Krankheit der Erbsen, verursacht von Fusarium vasinfectum Atk. (Ber. d. Dtsch. Bot. Ges. Bd. 21. 1903. S. 2—5.) — 7. Harter, L. L., A new wilt of peas. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 950—951.) — 8. Jones, F. R., Stem and rootrot of peas in the United States caused by species

of Fusarium. (Journ. Agr. Res. Vol. 26. 1923. p. 459—475.) — 9. Leonian, L. H., Studies on the variability and dissociations in the genus Fusarium. (Phytopathology. Vol. 19. 1929. p. 753—868.) — 10. Lewis, C. E., Comparative studies of certain disease producing species of Fusarium. (Maine Agr. Exp. Sta. Bul. Vol. 219. 1913. p. 203—258.) — 11. Linford, M. B., A Fusarium wilt of peas in Wisconsin. (Wis. Agr. Exp. Sta. Res. Bul. Vol. 85. 1928. p. 44.) — 12. Reinking, O. A., Soil and Fusarium diseases. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 91. 1935. p. 243—255.) — 13. Reinking, O. A., and Wollenweber, H. W., Tropical Fusaria. (Philippine Journ. of Sci. Vol. 32. 1927. p. 103—253.) — 14. Schikorra, G., Fusarium-Krankheiten der Leguminosen. A. Die St. Johanniskrankheit der Erbsen. (Arb. a. d. k. Biol. Anst. f. Land- u. Forstw. Bd. 5. 1906. S. 157—188.) — 15. Sherbakoff, C. D., Fusaria of potatoes. (N. Y. Cornell Agr. Exp. Sta. Mem. Vol. 6. 1915. p. 85—270.) — 16. Sleeth, B., Fusarium niveum, the cause of watermelon wilt. (W. Virg. Agr. Exp. Sta. Bul. Vol. 257. 1934. 23 p.) — 17. Snyder, W. C., Seed dissemination in Fusarium wilt of pea. (Phytopathology. Vol. 22. 1932. p. 253—257.) — 18. Snyder, W. C., A new vascular Fusarium disease of peas. (Science. N. S. Vol. 77. 1933. p. 327.) — 19. Snyder, W. C., Variability in the pea wilt organism, Fusarium orthoceras var. pisi. (Journ. Agr. Res. Vol. 47. 1933. p. 65—88.) — 20. Snyder, W. C., Notes on Fusarium of the Section Martiella. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 91. 1934. p. 163—184.) — 21. Snyder, W. C., St. John's disease of pea in Europe. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 91. 1935.) [In Press.] — 22. Starr, H. G., A study of diseases of canning crops (peas and corn) in Minnesota. (Minn. Agr. Exp. Sta. Tech. Bul. Vol. 89. 1932. 51 p.) — 23. Togashi, K., Three Fusaria which cause the wilt disease of pea. (Jap. Journ. Bot. Vol. 4. 1928. p. 152—188.) — 24. Turreson, G., Fusarium viticola Thüm. infecting peas. (Bot. Notiser. Vol. 4. 1920. p. 113—125.) — 25. Wade, B. L., Inheritance of Fusarium wilt resistance in canning peas. (Wis. Agr. Exp. Sta. Res. Bul. Vol. 97. 1929. 32 p.) — 26. Walker, J. C., Resistance to Fusarium wilt in garden, canning, and field peas. (Wis. Agr. Exp. Sta. Res. Bul. Vol. 107. 1931. 15 p.) — 27. Walker, J. C., and Snyder, W. C., Pea wilt and root rots. (Wis. Agr. Exp. Sta. Bul. Vol. 424. 1933. 16 p.) — 28. Went, J. C., Fusarium-Aantastingen van Erwten. Drukkery Hoeijenbos & Co. (N. V. Utrecht. 1934. 88 p.) — 29. Wilson, E. E., Variability of Pseudomonas cerasi in physical characteristics of growth on solid media. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 548—550.) — 30. Wollenweber, H. W., Studies on the Fusarium problem. (Phytopathology. Vol. 3. 1913. p. 24—50.) — 31. Wollenweber, H. W., Fusarium Monographie. (Ztschr. f. Parasitenkd. Bd. 3. 1931. S. 269—515.) — 32. Wollenweber, H. W., Sherbakoff, C. R., Reinking, O. A., Johann, H., and Bailey, A. A., Fundamentals for taxonomic studies of Fusarium. (Journ. Agr. Res. Vol. 30. 1925. p. 833—843.)

The use of a modified Rossi-Cholodny technic for studying the organisms that decompose certain organic compounds in soil.

[From the Institute of Agriculture Puławy, Poland.]

By **Jadwiga Ziemiecka.**

With 15 figures in the text.

New methods for the study of the activities of soil microbes in their natural surroundings have been developed during the last two decades by Conn, Winogradsky and others. An index of the extent to which the so-called "Méthode directe" has been of interest in soil microbiology, can be gained from the numerous applications made hitherto and from the number of modifications of it, which have been proposed. A technique which may be entitled to the adjective "direct" was worked out by Rossi (1) and also by Cholodny (2). The basis of their methods consisted in burying a slide in soil and examining the microflora which developed upon the slide. These methods promised to be of particular value in the qualitative study in natural soil profiles, of the physiognomy of life processes of the micro-organisms in their natural habitat and of mutual relationships of micro-organisms during the course of processes of growth and decay in the soil. The method of Cholodny („Aufwuchsplatten-Methode") was adapted by Conn (3) for the study of soils in laboratory conditions. Both Cholodny and Conn attempted the examination of unchanged soils as well as the study of decomposition of cellulose added to soil.

The author has tried to apply the laboratory technique of Conn to the study of the physiognomy of microbial life in soils after disturbing the normal soil equilibrium by the addition of different single organic substances, with a view to examining their chemotactical effect upon soil microbes. This application of the method seemed to be a useful addition to the well known direct methods of Winogradsky. Thirteen substances were chosen, such as might occur in original plant residues during the course of decomposition. These substances were: a) Organic compounds of nitrogen: peptone, alanine, asparagine, urea; b) non-nitrogenous substances: glucose, starch, xylan, cellulose; oleic, palmitic and stearic acids; phenol, and agar-agar; all in presence of small amounts of added nitrate.

Soils.

Only garden or arable soils were studied, they differed, however, either in character or in treatment. Special care was given to the choice of soils with different reactions, with pH varying from 4.0 to 7.0. Most of the samples were taken from experimental fields. Special attention was paid to those soils which had acquired a high degree of physiological acidity, and had a pH of about 4.0—4.5.

Technique of investigation.

Soil samples were taken from a layer of 5—10 cm depth and examined while fresh. Glass pots were filled with soil, and, if necessary, the moisture

Table 1. Growth of Micro-Organisms on Glass Slides Treated with Different Organic Compounds

Name of Compound and Type of Soil	Time of Culture at 30° C			
	4—5 hours	6 hours	9 hours	16 hours
1. Peptone in Garden and in Loamy soils	A few big Rods in long chains	Thick growth of Rods in chains	Same growth, small Rods and Actinomycetes	Same mixed growth
2. Alanine in Garden soil	A few Coccobacteria and Moulds	More Coccobacteria	—	—
3. Asparagine, Garden soil	A few long thin Rods	Thick growth of Rods 2-3/0.5 μ	—	Very thick growth
Loamy soil	None	Thick growth of big Rods 3—5 /1—1.5 μ		
4. Glucose + KNO_3 Garden soil	None	A few Clostridium-like forms	—	—
5. Starch + KNO_3 Garden soil	None	None	—	Thick growth of thin Rods (1.5—3 μ long); a few Actinomycetes
6. Stearic and 7. Palmitic acids + KNO_3, Garden a. Loamy soils	—	—	—	None
8. Oleic acid + KNO_3, Garden a. Loamy soils	—	—	—	None
9. Xylan + KNO_3, Garden a. Loamy soils	—	—	—	—
10. Cellulose + KNO_3, Gard., Loamy soils	—	—	—	—
11. Agar-Agar + KNO_3, Gard. soil	—	—	—	—
12. Urea, Garden, Loamy soils	—	—	—	—
13. Phenol + KNO_3, Garden soil	—	—	—	—

and Buried in Fertile Soils. (Garden soil with ph 7.0 and rich loamy soil with ph 6.8—7.0.)

in Hours and Days					
24 hours	40 hours	48 hours	72 hours	7 days	10—17 days
Long chains of spores of big Rods dominate the mixed growth of Bact. Actinomycetes and Moulds	Chiefly spores; Hyphae in decay, attacked by long-thin, pale Bacilli	—	—	—	—
Coccobacter. mixed with Actinomycet. a. Moulds	—	—	—	—	—
	No more specific Bac., secondary growth of Cocci, small Bac. a. many Moulds	—	—	—	—
Many Clostridium-like Forms and Rods	—	—	—	—	—
As at 16 hours	Thick growth of spec. Rods a. of Actinomycetes; a few Moulds	—	—	—	—
A few Actinomycetes	—	More dense growth of Actinomycetes (a. Moulds with Palmit. acid)	4 days: Masses of sporulating Actinomycetes, also many Moulds		7 days: Hyphae in decay attacked by Cocci
A few Moulds	—	More dense growth of Moulds	Thick growth of Moulds	Hyphae attacked by long pale Rods and Cocci	Same growth and many Actinomyc.
None	Spore forming Bacilli, a few Moulds	—	—	—	—
None	Beginning growth of Bacteria	Thick growth of Cytophaga a. other Bact. Also Moulds a. Actinomyc.	—	—	—
—	—	None	4 days: Many Actinomycetes in spore formation		Same growth
None	—	A few long, v. thin Rods	Medium growth of long Rods and other Bacteria	—	—
—	—	None	A few irregular small Rods and sm. Plectridiumlike forms	More small Rods	

Table 2. Growth of Micro-Organisms on Glass Slides Treated with Different Compounds and

Name of Compound	Time of Incubation at			
	4—5 hours	6 hours	16—17 hours	21 hours
Alanine	A few Moulds	Moulds	Thick growth of Moulds	Thick growth of spore-forming Moulds; Actinomycetes
Peptone	None	A few Moulds	—	Thick growth of Actinomycetes a. Moulds; few big Rods (chains)
Asparagine	None	Thick growth of Moulds		Thick growth of Moulds
Starch	—	None	—	Chiefly Actinomycetes and Moulds; a few pointed Rods
Xylan	—	—	—	None
Cellulose	—	—	—	None
Stearic acid	—	—	—	None
Palmitic acid . . .	—	—	—	None
Oleic acid	—	—	—	None
Urea	—	—	—	None
Phenol	—	—	—	—

content of the soil was adjusted with sterile water. Previously well cleaned and sterile microscope slides were smeared with solutions or suspensions of one of the compounds listed above, and carefully, dried. The compound was applied on the surface of about 2 cm² of the slide, and the quantity of it on each was about 10—20 mg. Cellulose was given, as powder or as sheets of filter paper or as cellophane. This last proved to be specially appropriate for the microscopical study of the development of colonies of microorganisms attached to its surface. The stimulating influence of compounds, which are practically insoluble in water, could be still better demonstrated when the compounds were applied as a row of small spots along the middle of the slides. For every nutrient a separate pot was used, each pot containing a set of six or more coated slides. The slides were covered with soil and kept in a vertical position. All the laboratory series have been investigated at 30° C, with the exception of a thermophilic incubation, which was kept at 60—65° C. The time-factor was considered here as indicator of the ability of different soils to break down the incorporated substances. At intervals of time the slides were taken out of the soil, care being taken not to disturb the growth adherent to their surface. The slides were dried at 50° C, stained with phenol-erythrosine for 15 minutes and examined under a magnification of 1000. A good deal of data have been already furnished by Winogradsky (4, 5), regarding the growth rates of different soil microorganisms,

Buried in Poor Acid Soils. (Two poor sandy acid soils with ph 4.0—4.5 and 4.5—5.0.)

30° C in Hours and Days				
40 hours	48 hours	72 hours	7 days	10 days
Same growth as at 21 hours	—	—	—	—
Chiefly Moulds and Actinomycetes	—	—	—	—
—	Moulds and Actinomycetes	—	—	—
Thick mixed growth of pointed Rods; Actinomycetes a. Moulds	—	—	—	—
Moulds		—	—	—
—	Thick growth of Moulds and Actinomycetes	—	—	—
—	—	Sporulating Moulds	—	Sporulating Moulds a. Actinomycetes
—	Sporulat. Moulds and Actinomycetes	—	Sporul. Moulds and Actinomycetes	—
—	Sporulating Moulds	—	—	—
None	—	A few long thin Rods	A few Rods and other Bacteria	—
—	None	None	None	None

in his studies on microbial activity, which were carried out on elective silica-jelly cultures. In Winogradsky's opinion (5), seven or eight hours suffice to give abundant growth of peptone and asparagine destroying organisms; decomposition of cellulose is visible after three or four days, but ten days or more are required to get a noticeable growth of phenol-decomposing organisms, even in a very fertile soil. To study the stimulating power of different compounds on soil microflora after long and uniform terms of incubation, may thus lead to erroneous interpretation.

Investigations and Results.

Two fertile and two poor soils were chosen for experiments under laboratory conditions with the organic substances listed above. Mineral nitrogen was added to the non-nitrogenous range in the form of nitrate. The fertile soils were: a garden soil rich in humus and in mineral nitrogen, pH 7.0, and a rich arable loamy soil, pH 6.8—7.0. The poor soils were sandy with a pH of 4.0—4.5 and about 5.0 respectively. Results of the examination of these soils are given in tables 1 and 2.

No differences have been noted between the two acid soils in respect of the growth of microbes with the whole set of compounds. A difference between the garden and the loamy soil was observed only in case of asparagine. The results in Table 1 and 2 are arranged in the order of decreasing

speed of development of the specific microbes nourished by the various compounds added upon the slides. The tables contain a brief description of the consecutive development of micro-organisms on the slides, and they are illustrated by photographs of the most characteristic groupings of growth on the variously coated slides.

Nitrogenous substances.

Peptone. The onset of micro-organic attack was particularly rapid in the case of peptone. In garden soil (Table 1) its stimulating effect was so quick, that after only 4—5 hours of culture at 30° C examination of the slides showed the presence of characteristic nests of bacteria, composed



Fig. 1.

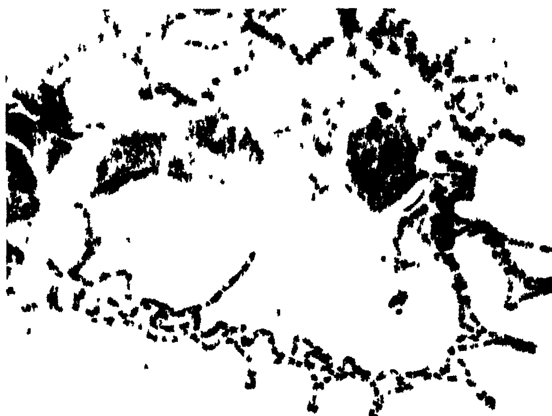


Fig. 2.



Fig. 3.



Fig. 4.

Fig. 1—3. Growth of Micro-organisms on slides with Peptone:

Fig. 1. Big rods in loamy soil with pH 6.8—7.0, after 5 hours at 30° C.

Fig. 2. Chains of rods develop round rests of peptone. Rods begin to form spores. 21 hours old culture in garden soil with pH 7.0.

Fig. 3. Chains of spores of the big rods and beginning growth of Actinomycetes, in loamy soil after 24 hours of culture.

Fig. 4. Growth on slides with Asparagine. Big rods with granular structure after 6 hours of culture in loamy soil.

(All the photographs are magnified × 800.)

exclusively of seemingly rapidly multiplying large bacilli as shown in Fig. 1. Six hours' culture was long enough to cover the whole peptone area on the slides with a dense growth of these same organisms. After only 9 hours of culture, a secondary growth was to be noted on the slides, which was composed of pale small bacilli and of the mycelia of actinomycetes. In 24 hours the large bacilli altered their arrangement to chains of spores (Fig. 2 and 3); the secondary growth grew in importance and was joined by moulds. In 40 hours' time the whole process of peptone decomposition seemed to be finished: a few spores were left and decaying hyphae were attacked by groups of pale thin bacilli (compare with Fig. 9). This visual observation of the decomposition of fungi by bacteria is of interest in view of the work of Jensen (6). In the infertile acid soils (Table 2) peptone seemed to be attacked first by moulds. Their growth was not so rapid by far as was the growth of the specific bacilli in garden soil. The maximum development of moulds was reached in both the acid soils investigated here after 16 hours and was accompanied or closely followed by the development of actinomycetes. Specific bacilli were found first after 24 hours of culture. It may be that their germs were contaminants, or they may be present in the soils in a reduced number and in a temporary inactive form, and that they could develop only when the biochemical action of moulds on peptone had neutralised the soils to a suitable degree. This question was studied further by means both of the "Aufwuchsplatten" method and in "spontaneous" cultures with peptonised soil, as shown in Table 3.


Fig. 5. Coccobacteria, after 24 hours of culture in garden soil.

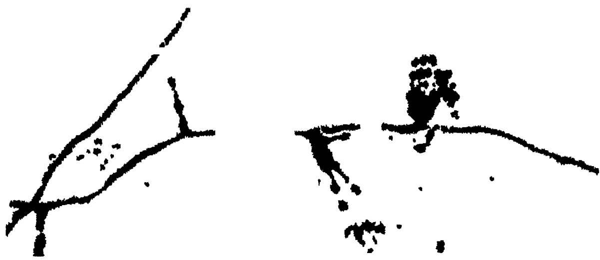

Fig. 6. Fructification of moulds, after 24 hours of culture in sandy soil with pH 4.5—5.0.

Fig. 5—6. Growth on slides with Alanine.

Alanine. Coccobacteria were found after a few hours of culture on slides with garden soil, and they were accompanied by a few moulds. After 24 hours the coccobacteria still predominated (Fig. 5), but moulds and actinomycetes were also abundant.

In acid soils, only moulds developed in the first hours of culture. After 24 hours actinomycetes were also to be noted. Fig. 6 shows characteristic conidia formation of moulds, a picture very common in acid soils after 24 hours of culture with alanine.

Asparagine. Asparagine was also among the first compounds to be decomposed, and, just as were peptone and alanine, it was attacked

by bacterial agents in garden and in loamy soil, while, in acid soils, moulds alone or associated with actinomycetes, were the agents of its initial destruction. Among the bacterial agents, two different forms have been found: in garden soil thin, pointed rods invaded the whole asparagine slide after 6 hours of culture and in loamy soil the corresponding growth consisted of big, sharply granulated rods in chains (Fig. 4).

Urea. This compound seemed to be decomposed very slowly in all the soils studied. In neutral soils a moderate growth was noticeable only after 2—3 days of culture; after a similar time growth was still very weak in acid soils. In both the neutral and acid soils the growth was composed only of bacteria, among which long and thin rods seemed to be the most abundant forms.

Non nitrogenous Substances.

To the non-nitrogenous compounds mineral nitrogen was added in the form of a few mg. of potassium nitrate on each slide.

Glucose. This was the most readily attacked of the non-nitrogenous substances. In garden soil, rich in mineral nitrogen, growth was noted after 6 hours. After 24 hours an abundant growth of Clostridium-like forms was to be seen. No investigations were made in the loamy and in acid soils.

Starch. Of the substances tested, starch was second only to glucose in attractiveness for the soil micro-organisms. In garden soil, chiefly long and thin bacilli developed after 16 hours, and the secondary growth consisted of actinomycetes and of moulds. In sandy acid soils the chief agents of destruction were actinomycetes, accompanied by moulds and by a poorly developed bacillary growth (Fig. 7).

Stearic, palmitic and oleic acids. These higher fatty acids have been used here as free acids, and comparative trials with their salts have not yet been made. In the cases of stearic and palmitic acids, the agents of decomposition in neutral soils have been chiefly actinomycetes (Fig. 8). The maximum development of the actinomycetes was reached on the fourth day of incubation. Moulds developed too, but no bacteria. These two acids seemed therefore to be valuable means for the study of actinomycetes directly in the soil.

In poor acid soils (Table 2) neither palmitic nor stearic acid was attacked as rapidly as in the fertile soils, and the agents of destruction were chiefly moulds, among which sporulating penicillia-like moulds were frequently to be noted. The only unsaturated fatty acid tried — oleic — was attacked first by moulds both in acid and in neutral soils. After some seven days of culture actinomycetes were to be found, and they gew in importance after 10—17 days of culture.

Instructive associations, similar to those found by Conn (3), have been observed on both stearic and on oleic acid slides after one week in garden soil: the disintegrating hyphae of moulds attacked by characteristic long and pale bacilli and by smal cocci (Fig. 9 and 10). With all the soils investigated, oleic acid showed itself to be a very good reagent for the direct study of moulds in the soil. The hyphae of moulds bound the soil tightly to the microscopic slide, and their growth was so thick, that it could be seen with the naked eye.

Xylan. Xylan was chosen from among the pentosans as being perhaps the most common in plant material. In about 2 days of incubation, both in neutral and in acid soils, it gave rise to a noticeable growth. The

growth consisted, in the neutral soils, chiefly of big sporophoric bacilli, and in the acid soils, of moulds and actinomycetes.

Agar-Agar. The readiness of its destruction in soils was studied only in garden soil. Actinomycetes were found to develop very abundantly in it after some days of culture.

Phenol. The quantity of it on the slides amounted to about 20 mg. As was to be expected, the growth of micro-organisms on it was very slow. Though growth was noted already after two or three days, it grew more dense only after seven days in garden soil. No growth could be found on phenolised slides in acid soils during ten days of incubation. The growth in garden soil consisted of small irregular rods and of Plectridium-like forms. No moulds or actinomycetes were developed by the presence of phenol in either of these soils.



Fig. 7. Slides with Starch: Germinating Actinomycetes and Moulds in sandy soil with pH 4.5 after 21 hours of culture.

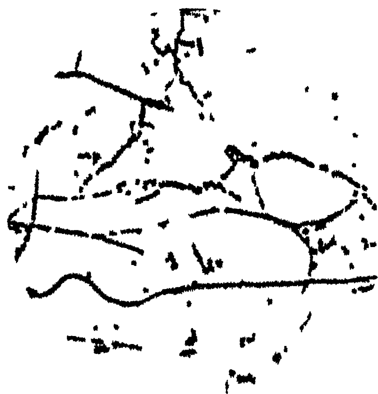


Fig. 8.



Fig. 9.

Fig. 8—9. Slides with Stearic acid:
Fig. 8. Actinomycetes in garden soil after 4 days of culture.
Fig. 9. Secondary growth of thin pale rods and cocci on decaying hyphae of moulds after 7 days of culture in sandy acid soil (pH 4—4.5).

Many of the micro-organisms found here have already been described by Winogradsky (5), as specific agents of organic matter decomposition. Among others the same specific microorganisms seemed engaged in the decomposition of peptone, cellulose and higher fatty acids, both in the fertile soils of the region of Brie (studied on elective silica-jelly plates) and in our soils studied here by means of the "Aufwuchsplatten" method. However, our results were different, when poor acid soils were investigated instead

of rich neutral soils. In acid soils the quantity of bacteria seemed to be greatly reduced, and in their place, moulds and also actinomycetes spontaneously developed in contact with the organic substances. It should be borne in mind, however, that the soils chosen for our investigations have been exceptionally acid.

In order to see how frequent is a dominance of moulds in acid soils, a special set of soils was tried again with peptone. This new peptone series was also investigated with the help of Winogradsky's original technique (4) of "culture spontanée" in the soil. The comparison enabled an idea to be obtained, as to how far the results obtained with the technique of Cholodny may be representative for each soil. instead of being simply casual. For repeated trials with peptone, four acid soils were chosen with a pH of 4.0—5.0, and two neutral soils. Investigations with the method of Cholodny were carried out in the same way as those already described. The "direct method" (Culture spontanée) of Winogradsky was applied to all these soils, by mixing them with 0.25% of their weight with peptone and incubating them in Petri dishes at 30° C. Investigations have been carried out with both these techniques simultaneously. From the soil mixed with peptone and kept in Petri dishes, water suspensions and centrifugates were prepared lege artis (Winogradsky, 4) and examined in erythrosine-stained preparations at the same time as the "Aufwuchsplatten". The results obtained with both these methods are given in Table 3.

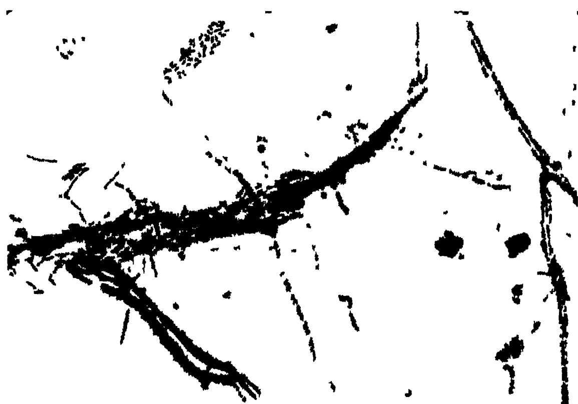


Fig. 10. Secondary growth of Actinomycetes and thin Rods on decaying hyphae after 7 days of culture with Oleic acid in garden soil.

Both the neutral soils gave the same uniform and rapid development of large spore-forming bacilli in chains, as was found in the first experiment (Table 1). Already after six hours its growth was marked, as found both in suspensions of soil, with which peptone had been mixed, and on the peptone-coated slides. Noticeable quantities of free ammonia were evolved from the soil containing peptone, in fact sufficient to change the colour of moist red litmus paper. The four acid soils proved to be much less active in peptone decomposition. Free ammonia was noticed in one of them (No. 3, with a pH of 4.8—5.0), after 24 hours of incubation and after 48 hours in the rest of the acid soils (Nos. 4, 5, 6 in Table 3). The following microbial cells were found in acid soils[1]):

Soil No. 3 (Table 3) gave in the first stages of culture a mixed growth of the specific peptone bacilli, some Azotobacter-like cells, which

[1]) It should be noted that these findings refer equally to the peptone slides and to microscopic preparations from Petri dishes with peptonised soils.

Table 3. Growth of the Micro-Organisms in Spontaneous Culture in Soils Mixed with Peptone, in Relation to the Character of the Soil.

No.	Soils	Time of Incubation at 30° C in Hours					
		4—5	6	10	24	36	48
1	Garden soil, ph 7.0	A few big Rods in long chains	Thick growth of big Rods in long chains. Free Ammonia	—	—	—	—
2	Fertile Loamy soil, ph 6.8—7.0	A few big Rods in long chains	Thick growth of same big Rods. Free Ammonia	—	Mixed growth of sporeform. Rods in chains, Actinomycetes, Moulds a. small Bacteria	—	—
3	Podsol on clay, ph 4.8—5.0	None	A few Moulds a. Azotobact.-like cells in chains	Many Azotob.-like cells, few Moulds a. big Rods in chains. No free Ammonia	Chiefly sporeforming Rods mixed with Actinomycetes and Moulds. Free Ammonia	Thick growth of sporeformers, Moulds a. Actinomycetes	After 72 hours: many spores of big Rods, Micrococci. Free Ammonia
4	Poor sandy soil (control plot in Exp. Field), ph 4.8—5.0	None	A few Moulds	—	Sporeformation of Moulds, long chains of sporeform. Rods, Actinomycetes, and Plectridia. No free Ammonia	—	Thick growth of long pale Bacilli round decaying hyphae. Free Ammonia
5	Poor sandy soil (plot with sulph-ammonia, in same as 4 Exp. Field), ph 4.0—4.5	None	None	Incipient growth of Moulds	Thick growth of Moulds in sporeformation	Thick growth of Moulds and thin Bale Bacilli. No free Ammonia	Many spores of Moulds; hyphae decaying, many pale Bacilli. Free Ammonia
6	Podsolised soil on heavy clay, ph 4.0—4.5	None	None	None	Many Moulds, beginning growth of Actinocycetes a. of single Rods	Thick intermixed growth of sporeform. Moulds, Actinomycetes, and single Rods. A few Acotobacter-like cells. No free Ammonia	Many pale Bacilli, round decaying hyphae of sporulating Moulds, Actinomyces. Free Ammonia

were very similar to those found in the soils by Dianova and Vorobhilova (7), and moulds. In the other three acid soils (Nos. 4, 5, 6, same table), growth of moulds was the first to be noticed. The bacterial growth and also actinomycetes were to be found only after 24 or more hours of culture. The big sporeformer, so typical for the fertile neutral soils, was seemingly replaced by other bacillary forms in the very acid soils. The results obtained with this set of trials with peptone confirmed, in general, the previous results summarised in Tables 1 and 2. That is: in very acid soils the attack on peptone was due to moulds and the numerically small or temporarily inactive bacterial agents developed in acid soils only as secondary growth, for which the action of moulds had evidently created appropriate conditions.

A still more extensive study with different soils and compounds would be needed, to show in detail, how far the soils reaction affects the special activities of different groups of micro-organisms in the soil.



Fig. 11.



Fig. 12.

Fig 11—12. Thermophilic culture with Peptone at 60—65° C.:
Fig. 11. Thin granulated rods, after 5 hours of culture in garden soil
Fig. 12 Big Clostridium-like rods after 11 hours of culture in same garden soil.

Peptone has also been employed by the author to survey the possibility of applying the Rossi-Cholodny technique to a study of anaerobic and thermophilic micro-organisms present in the soil or in organic manures.

Anaerobic peptone decomposition in soils.

For this study slides with peptone were inserted in a pot with garden soil, which was totally saturated with water and kept at 30° C in a vacuum desiccator, on the bottom of which was an alkaline solution of pyrogallol (Fig. 14). The peptone slides used here for the study of the corresponding anaerobic microflora in garden soil, revealed the presence of the big sporeforming bacillus in chains, which had been found also in aerobic conditions (cf. Figs. 1—3). After five hours its growth was very slight; after 24 hours at 30° C long chains were found interspersed with various small rods. The slides had an intense smell of typical putrefaction.

Thermophilic micro-organisms of peptone decomposition.

Investigations on the presence and nature of thermophilic microorganisms in the soils have been made only with peptone and only in garden soil. A soil sample of about 50 gm was mixed with 0.25% of its weight of peptone, and slides smeared with peptone were inserted in it, the whole being kept in Petri dishes and in a moist chamber at a temperature of 60—65° C. Litmus and silver nitrate papers were suspended above the dishes to indicate the commencement of peptone decomposition under thermophilic conditions. After only three hours of incubation the silver nitrate paper darkened, owing to evolution of H_2S, and in five hours free ammonia affected the litmus paper.

Microscopical examinations were made after 5, 7 and 11 hours of culture. The heated soil smelt very much like fermenting farmyard manure. The growth of the micro-organisms was vigorous after five hours of culture.



Fig. 13.

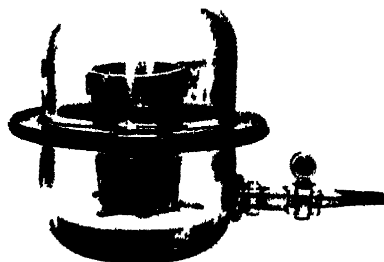


Fig. 14.

Fig. 13. Plant residue after 3 weeks of culture in garden soil: heavy growth of Actinomycetes with sporulating threads.
Fig. 14. Apparatus for Anaerobic culture

It consisted of long and thin, sharply granulated rods in pairs or in threads (Fig. 11) and of rods with terminal spores. The growth was extremely vigorous during the whole time of culture. A common finding in one microscope field was the presence of all of the following: germinating spores, vegetative rods, rods with spores, and pale shadows of already destroyed vegetative rods, all mixed together (Fig. 11). Big Clostridium-like rods developed after 11 hours (Fig. 12). The method seems to be valuable for the qualitative study of the mixed thermophilic organisms present in soil. It may be also applied, with appropriate modifications, to the study of the thermophilic agents in organic manures.

A further application of Rossi-Cholodny technique was made as a means of study of the microbial flora engaged in the decomposition of actual plant fragments, added to the soil. For this trial fresh plant leaves were finely shredded and attached by their own juice to the glass slides. The slides were put, as usual, in covered glass pots with soil, and kept at

30° C. The study was not followed systematically here, but a few interesting results may be reported. In the first few hours of incubation, initial growth was provided by the big rods in chains so characteristic for decomposition of peptone, and by some smaller rods. More bacteria and a thick growth of moulds followed in the next stages of the plant decomposition, whilst actinomycetes were the last to develop and assumed an increasing importance with the advance of the decomposition processes. After 2—3 weeks of culture at 30° C, bacteria were found mostly in the form of spores; vegetative hyphae of moulds were still present, but the greater part of the microbial flora consisted of actinomycetes, which were accumulated in heaps of sporulating threads (Fig. 13).

As far as undisturbed soil profiles are to be studied in regard to the aspect of the microbial development in them, the laboratory technique of the "Aufwuchsplatten" needs to be still further improved. For the purposes outlined in this study some additional experiments in laboratory conditions have been carried out, using, as far as possible, undisturbed soil profiles. Soil samples were taken as whole soil blocks, in special tins (Fig. 15). Each soil block was cut in half with a very thin and sharp knife, so as to keep their original structure possibly undisturbed. Coated slides were pressed between the two halves of the soil blocks, and the whole was inserted in a crystalliser. The crystallisers were covered with glass plates, so as to leave some free space above the soil for aeration (Fig. 15). After a period of incubation the slides were very carefully removed from the soil, and were examined, first at low powers without any staining or otherwise disturbing the structure of the soil particles on the slides. The development of the mycelia could be observed well in this way. For investigations carried out at higher magnifications, the bigger soil particles were carefully removed from the slides, and the preparations were fixed with alcohol and stained with phenol-erythrosine. Only a few trials have been made in this way, but they seemed worth while reporting already here. The growth on peptone slides was very characteristic: colonies were formed with the shape of radiant stars, which consisted of long chains of the typical big rods. The chains spread in different directions, through narrow free spaces, which are left between the soil particles. This technique does not seem easy of application to light, friable soils.

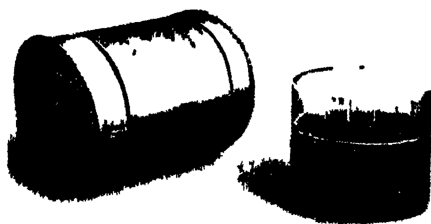


Fig 15. Tin box for soil sampling and a culture in crystalliser, containing a soil sample with undisturbed soil structure.

Discussion and conclusions.

All the results which are grouped in Tables 2 and 3, or shown in the Figures, may be considered as a qualitative demonstration of the activities of microbial factors engaged in decomposition of the organic matter, in relation to:

1. The nature of the organic matter itself.
2. The character of the soils (their composition, reaction, etc.).

3. The environment conditions (moisture content of soils, temperature, etc.).

The Rossi-Cholodny-Conn technique applied to this study, wholly confirmed the dominant role of bacteria in the decomposition processes of some of the commoner organic compounds. in non-acid and fertile soils. It confirmed also the specific character of different groups of micro-organisms — especially of the bacteria — in relation to their ability to break down organic compounds in the soil, which had been so brilliantly demonstrated by Winogradsky (4, 5). The distinctly different character of four groups of bacteria, engaged: one in peptone, another in alanine, and the third and fourth in asparagine decomposition (Fig. 1—5), may serve as a characteristic example of the elective value of different nutrients in soil microbial activity.

Actinomycetes and moulds have been noted, as organisms well adapted for the direct assimilation of higher fatty acids and of agar-agar. They also occurred, with many of the specific bacteria, as secondary growth in processes of decomposition or reassimilation. The actinomycetes seemed to play a very marked role in the ultimate decomposition stages of plant residue, after the action of moulds and bacteria had finished. As shown by this method, the type, and, more especially, the reaction of soils play a very important part in defining their microbial activity. In fertile soils and in soils not acid, the decomposition processes are far more rapid than in poor acid soils. In the case of the fertile soils the chief agents of organic matter destruction have been found to be groups of bacteria, whereas in the acid soils investigated here bacterial activity was substituted by that of moulds either alone or in association with actinomycetes (Table 2). These remarks hold good as a rule for the whole set of non-nitrogenous organic compounds in presence of potassium nitrate. With the amino-acids, like asparagine or peptone, the question was not so clear. However it seemed, that the action of bacteria on these compounds in acid soils, became possible only when the first attack of moulds on them had neutralised the acidity to a degree suitable for the specific bacterial agents. Urea was an exceptional compound in our series. It was attacked only by bacterial agents, in spite of the different characters of the soils, in which it was tried.

With most of the compounds investigated and in all of the studied soils the actinomycetes occurred, as a rule, as a secondary growth, after the first attack of specific micro-organisms on the given compounds was over. Among the secondary growth some specific groups of bacteria commonly were present, feeding on the decaying micro-organisms. This picture had already been noted by workers, who used the original methods in the study of microbial associations in untreated soils.

The influence of external conditions on the nature of soil microbial agents, engaged in decomposition processes can be checked by the same method, as shown by the results obtained by the author in cultures, when kept at different temperatures, or at a different state of aeration.

The method of the "Aufwuchsplatten" applied to the study of the effect on soil micro-organisms of different organic compounds or of actual plant structures, ought to be improved by additional laboratory investigations. When care is taken not to disturb the structures on the microscope slides, the picture of the growth and disposition of microbial colonies and of the

interrelationships between their different groups can be followed very closely. In the author's trials, no qualitative differences have been noted between this method of "coated slides" and the "culture spontanée" of Winogradsky, in respect of the morphological nature of the microbial agents, which developed in the presence in the soil of different organic compounds. However, in cases of treated as well as untreated soils, much care must be taken in order to avoid false interpretation from what may be purely casual results. In any case, the author considers the direct study of the "physiognomy" of different life processes in the soil, to be a notable addition to those methods already outlined by Winogradsky, for the study of the nature and biochemical activity of soil micro-organisms. Valuable information respecting bacterial life in the soil might also be obtained by considering results derived from the "Aufwuchsplatten"-technique in conjunction with direct counts of soil bacteria by the method of Thornton and Gray (8).

Summary.

The laboratory modification of the direct method of Rossi and Cholodny, as introduced by Conn, was applied here to the study of the stimulating influence of twelve organic substances on the activity of different groups of soil micro-organisms.

Good illustrations of the changing "physiognomy" of the microscopic life of the soil were obtained in relation to:

1. The chemical nature of the organic substance.
2. The soil's character. (Fertile or poor; neutral or acid.)
3. The external conditions. (Temperature; oxygen content of atmosphere.)

Trials were made to improve the laboratory method, in particular, in relation to the study of the microbiology of soil profiles.

The writers best thanks are due to professor S. Winogradsky for reading the manuscript, to Mr. H, Nicol, M. Sc. from the Rothamsted Experimental Station for his help in rearranging its English form, and to Dr. M. Latyszewski for his assistance in making the photographs.

References.

1. Rossi, G., Festschrift 70. Geburtstag J. Stoklasa. Berlin 1930. — 2. Cholodny, N., Arch. f. Mikrobiologie. T. 1. 1930. S. 620. — 3. Conn, H. J., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 87. 1932. S. 233. — 4. Winogradsky, S., Annales Pasteur. T. 39. 1925. — 5. Winogradski, S., Annales Pasteur. T. 48. 1932. — 6. Jensen, H. L., Journ. Agr. Sci. T. 22. 1932. p. 1. — 7. Dianowa, E., and Woroschilowa, A., Cbl. f. Bakt. II. T. 48. 1931. — 8. Gray, P. H. H., and Thornton, H. G., Nature. 1928. p. 400.

Nachdruck verboten.

Bakterienwachstum und Verdunstung auf Kühlfleisch in ruhender und bewegter Luft.

[Aus dem Botanischen und dem Kältetechnischen Institut der Technischen Hochschule Karlsruhe.]

Von **W. Schwartz** und **Erwin Loeser.**

Mit 8 Abbildungen im Text.

I. Einleitung.

Die vorliegende Arbeit ist eine Ergänzung und Fortsetzung der Untersuchungen, die unternommen wurden, um die günstigsten Lagerbedingungen für gekühltes Fleisch zu ermitteln.

Es sollten die in einer früheren Arbeit (Schwartz und Schmid, 1931) bei Kühlung in ruhender Luft gewonnenen Ergebnisse mit einer verbesserten Methode überprüft und durch Versuche in bewegter Luft erweitert werden. Mit Rücksicht auf die Praxis war es erforderlich, Versuchsstücke mit verschiedenem Verhältnis von Oberfläche : Gewicht (= F/G) zu verwenden.

Da für das Bakterienwachstum nicht der Zustand der Luft unmittelbar maßgebend ist, vielmehr der vom Luftzustand sowie von der Herkunft, Beschaffenheit, Größe und Gestalt der Versuchskörper abhängige Oberflächenzustand des Fleisches, wurde parallel mit den mikrobiologischen Untersuchungen an den gleichen Versuchskörpern der Verlauf der Verdunstung bei den verschiedenen Luftzuständen bestimmt. Dadurch gelang es, den mit der Erzielung einer bestimmten Haltbarkeit (Lagerdauer) des gekühlten Fleisches verbundenen „Mindestgewichtverlust" zu ermitteln, der für die Wirtschaftlichkeit des Kühlverfahrens wichtig ist.

II. Methode.

1. Allgemeines. Die Komponenten, die den physikalischen Zustand der Luft definieren, wurden im Anschluß an frühere Arbeiten so gewählt, daß sie sich innerhalb der in der Kühlhaustechnik üblichen Grenzen bewegen: Temperaturbereich ± 0 bis + 6° C; relative Feuchtigkeit 70—100% in Intervallen von 5—10%; Luftgeschwindigkeit 0—0,1 m/sec.

Als Versuchsmaterial diente fettfreies Rindfleisch, das stets vom gleichen Muskel des Hinterviertels 2—3 Std. nach der Schlachtung entnommen wurde. Da das in der Praxis übliche Verhältnis von Oberfläche (F) zu Gewicht (G) wegen der Kostspieligkeit der hierzu erforderlichen Apparatur und auch aus anderen Gründen nicht angewandt werden konnte, benutzten wir Modellzylinder von verschiedenem F/G, bei denen stets der Durchmesser (d) gleich der Höhe (h) war, nämlich:

d = h = 40 mm	F/G = 0,14 qm/kg
d = h = 30 „	F/G = 0,187 „
d = h = 20 „	F/G = 0,28 „

Die Versuchsstücke wurden mit Hilfe von Hohlzylindern unter Anwendung der üblichen Vorsichtsmaßregeln aus dem Muskel ausgestanzt.

Die Feuchtigkeitseinstellung innerhalb der mit Vaseline abgedichteten und je mit einem Fleischstück beschickten Glasgefäße erfolgte durch Salzlösungen verschiedener Dichte.

Da die bakteriologischen Untersuchungen der Fleischoberfläche und der Kühlhausluft keine spezifischen Bakterienarten ergeben hatten, sondern nur die übliche Flora[1]), überließen wir die Versuchsstücke der Luftinfektion und bestimmten in jeder Versuchsreihe an einigen Kontrollstücken den „Anfangskeimgehalt". Die Zählung der Keime erfolgte im wesentlichen wie bei Schwartz und Schmid (1931), nur mußten wegen der Verwendung größerer Fleischstücke die Dimensionen der Hilfsgefäße zur Herstellung der Verdünnungen geändert werden. Zur Verteilung der Keime in der Aufschwemmung diente eine Schüttelmaschine.

2. Apparatur für ruhende Luft (stille Kühlung). Verwandt wurde ein umgebauter Kühlschrank der Elektrolux-Gesellschaft, bei dem zur Erzielung einer konstanten Temperatur die Absorptions-Kältemaschine ständig kühlte und die nach Abzug des Einstrahlungsverlustes noch überschüssige Kälteleistung des Verdampfers durch eine gesteuerte elektrische Widerstandsheizung kompensiert wurde.

Die automatische Regelung bestand aus einem Steuerkreis (Kontaktthermometer mit parallel geschaltetem Blockkondensator, Klingeltransformator und Magnetspule des Cutax-Relais) und einem Heizkreis (Schaltrohre des Cutax-Relais und elektrische Heizung).

Wird die im Kontaktthermometer eingestellte Temperatur unterschritten, so offnet sich der Steuerkreis, und in der Schaltrohre des Cutax-Relais wird der Heizstrom geschlossen. Die elektrische Heizung im Schrank dauert so lange, bis im Kontaktthermometer der Steuerkreis wieder geschlossen und damit die Heizung ausgeschaltet wird. Der im Kuhlschrank befindliche, ununterbrochen laufende Ventilator sorgt für einen raschen Temperatur-Ausgleich im Versuchsraum, so daß die zeitlichen und ortlichen Temperaturschwankungen im Kuhlschrank $^1/_{10}{}^0$ nicht überschreiten und die Temperatur innerhalb der Versuchsgefaße als praktisch konstant angenommen werden kann.

3. Apparatur für Kühlung in bewegter Luft. Die exakte Regelung und Konstanthaltung der Lufttemperatur und Luftfeuchtigkeit gestalten sich bei bewegter Kühlung viel schwieriger als bei stiller Kühlung (vgl. Linge 1933). In den gewerblichen Kühlräumen findet man bestenfalls eine vollautomatische Regelung der Temperatur. Auf eine entsprechende Regelung der Luftfeuchtigkeit wird verzichtet, so daß starke Schwankungen je nach Art der Beschickung, der Konstruktion und der Betriebszeit des Kühlraumes unvermeidlich sind.

Die für unsere Versuche erforderliche Konstanz von Temperatur und Feuchtigkeit ließ sich am einfachsten erreichen, wenn die gesamte, auf einen bestimmten Feuchtigkeitsgehalt eingestellte Strömungsapparatur gasdicht abgeschlossen und von außen auf konstante Temperatur gebracht wurde. Zu den Vorversuchen diente ein Glasgefäß von etwa 40 l Rauminhalt mit fest schließendem Deckel, in dem sich die Salzlösung zur Erzielung einer bestimmten relativen Feuchtigkeit und ein Ventilator befanden. Die Versuchsstücke hingen in einem Windkanal, in den der Ventilator eingebaut war. Aus der Drehungszahl des Ventilators ließ sich die im Windkanal herrschende Luftgeschwindigkeit ermitteln. Durch Eintauchen der ganzen

---

[1]) Es fanden sich unter anderem Bac. subtilis, Bact. fluorescens und besonders Micrococcus luteus. Luft-Analysen in einer Kühlanlage brachten bei einer Exposition von 10 Min. kaum mehr als 10—20 Kolonien pro Petrischale.

Apparatur in einen gekühlten Solethermostaten wurde die Temperatur im Innenraum konstant gehalten. Für die Hauptversuche benutzten wir zuerst eine im Keller des Institutes aufgestellte großdimensionierte geschlossene Strömungsapparatur, bestehend aus den nach strömungstechnischen Gesichtspunkten konstruierten Versuchskammern, dem Luftkühler[1]), der Kältemaschine[2]) mit Solebehälter[3]) und Verdampfer und dem Gebläse. Die gesamte Apparatur war durch sorgfältige Isolation mit Seidenzopf vor Wärmeverlusten geschützt.

Die Regelung der Temperatur in den Versuchskammern erfolgte von der zur Luftkühlung benutzten Sole aus, die ihrerseits durch den Verdampfer der dauernd arbeitenden Kältemaschine und durch eine gesteuerte Tauchheizung auf konstanter Temperatur gehalten wurde. Die relative Feuchtigkeit in den Versuchskammern war abhängig von der Konzentration der Sole, die endgültige Einstellung erfolgte durch nachträgliches Einblasen von Wasserdampf und wurde durch besonders konstruierte Psychrometer an jeder Versuchskammer kontrolliert. Zur Messung der Luftgeschwindigkeit dienten Normalstauränder, die sich hinter jeder Versuchskammer befanden.

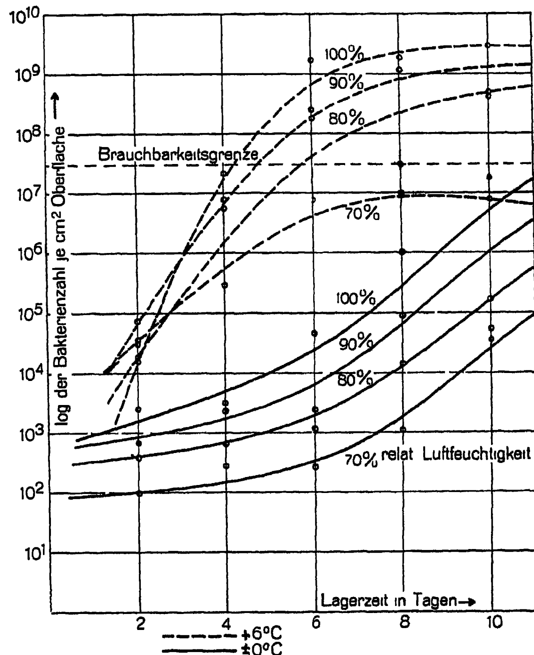


Abb. 1[5]). Einfluß der Lagertemperatur auf das Bakterienwachstum bei verschiedenen relativen Feuchtigkeiten der Luft. F/G = 0,28; t = + 6° und ± 0° C; φ = 70, 80, 90, 100%.

Da sich bei der Durchführung von Dauerversuchen im vollautomatischen Betrieb mancherlei Schwierigkeiten ergaben[4]), und außerdem die Herstellung von Luftfeuchtigkeiten in der Nähe des Sättigungsgrades nicht möglich war, setzten wir die Versuche in einer kleineren, in einen Elektrolux-Kühlschrank eingebauten Anlage fort (vgl. K a e ß und S c h w a r t z , 1934).

III. Versuchsergebnisse.

1. Das Bakterienwachstum in Abhängigkeit von den Außenbedingungen.

a) Bei ruhender Luft. Da gegenüber früheren Versuchen die Größe der Fleischstücke geändert war und die Konstanz der Versuchsbedin-

[1]) Naßluftkühler. [2]) Zweizylindriger SO_2-Kompressor der Firma Wahl-Balingen. [3]) 600 l Fassungsraum. [4]) Aus diesem Grunde sehen wir auch davon ab, die Versuchsanlage mit allen Einzelheiten bekanntzugeben. [5]) Nach neueren, noch nicht veröffentlichten Versuchen bei gleichem Anfangskeimgehalt muß die Kurve bei 0° C und 70% rel. Feuchtigkeit beim Beginn der Lagerung etwas flacher verlaufen, was sich zwanglos mit den eingetragenen Versuchspunkten vereinbaren läßt.

gungen verbessert werden konnte, war es erforderlich, auch in ruhender Luft einige Versuchsreihen auszuführen, die als Vergleichsmaterial für die Versuche bei bewegter Luft und zugleich zur Kontrolle der früher (1931) erzielten Resultate dienen sollten.

Lufttemperatur. Die Wirkung der Temperatur kommt zwischen 3 und 6° C fast nur in einer zeitlichen Hemmung (vgl. Estor, 1922) im Verlauf der Wachstumskurve zum Ausdruck. Bei einer Senkung der Temperatur auf 0° C wird die Verzögerung so stark, daß ein Wendepunkt erscheint. Während bei 3 und 6° C infolge der günstigeren Wachstumsbedingungen nur der zweite und dritte Abschnitt der Wachstumskurve erfaßt werden konnten, tritt bei 0° C auch der erste Abschnitt in Erscheinung (Abb. 1). Die absolute Entwicklungshemmung durch Temperatursenkung ist zwischen 6 und 3° C gering, bei 0°, wenn man auf die im Versuch nicht erfaßten Endwerte extrapoliert, vielleicht etwas stärker.

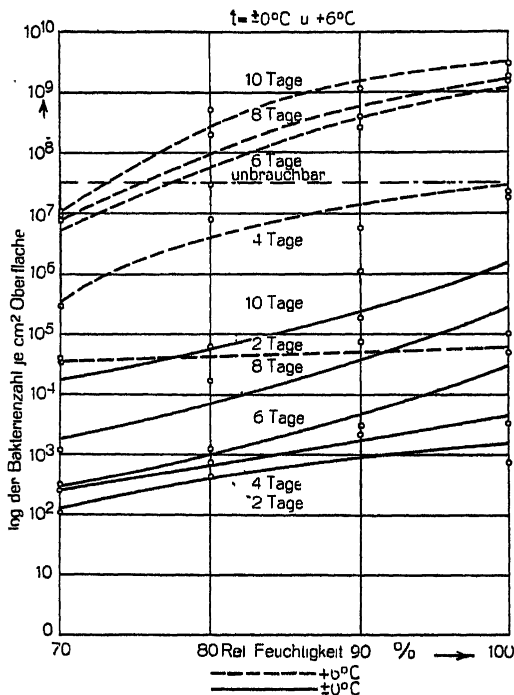


Abb. 2. Einfluß der Luftfeuchtigkeit auf das Bakterienwachstum bei verschiedenen Lagertemperaturen. F/G = 0,28; t = + 6 und ± 0° C.

Luftfeuchtigkeit (Abb. 2). Während die Höhe der Temperatur in erster Linie darüber entscheidet, welche Abschnitte der Wachstumskurve innerhalb einer bestimmten Versuchsdauer erfaßt werden, bestimmt die relative Feuchtigkeit der Luft den Abstand der Kurve von der Abszisse und die Höhe des unter gegebenen Versuchsbedingungen erreichbaren Endwertes. In den ersten Tagen ist der Unterschied zwischen den einzelnen Feuchtigkeiten nicht sehr groß, die Oberflächenverhältnisse der Fleischstücken sind noch ziemlich gleichartig, da trotz stärkerer Verdunstung bei den niederen Feuchtigkeiten durch die sofort darauf einsetzende Diffusion von Wasser aus dem Inneren der Feuchtigkeitszustand in der Grenzschicht nicht wesentlich verändert wird. Die in den ersten Tagen mit größter Intensität einsetzende Bakterienvermehrung eilt gewissermaßen dem Dampfspannungsausgleich voraus. Erst nach mehreren Tagen macht sich eine allmähliche Abtrocknung der Oberfläche bemerkbar und zwar bei 70% schon so deutlich, daß das Fleisch nach 8 Tagen weniger durch die infolge der Bakterientätigkeit hervorgerufenen als durch die von der Verdunstung bedingten Oberflächenveränderungen unbrauchbar gemacht wird. Bei 90—100% sind die Wachstumsunterschiede nicht sehr groß infolge der nicht allzu verschiedenen Oberflächenzustände.

Im Gegensatz zur Temperatur, bei der nach erfolgter Abkühlung Ober-

fläche und Gewicht des Kühlgutes ohne Bedeutung sind, wird der Quotient F/G hinsichtlich der relativen Luftfeuchtigkeit von großerer Bedeutung sein, da ja die Beeinflussung des Bakterienwachstums indirekt uber den Zustand der Substrat-Oberfläche erfolgt.

Bei der in unseren Versuchsgefäßen noch zulässigen Größe der Fleischstücke bestanden allerdings zwischen Stücken von F/G = 0,14 und F/G = 0,28 nur geringe Unterschiede in der Bakterienentwicklung. deutlicher waren die Unterschiede bei den Verdunstungsversuchen (vgl. S. 402).

Vergleicht man die Resultate uber den Einfluß von Temperatur und Luftfeuchtigkeit mit den fruher erhaltenen (vgl. Schwartz und Schmid 1931), so zeigt sich, daß die Wachstumskurven bei den höheren Temperaturen im allgemeinen übereinstimmen. Größere Abweichungen bestehen dagegen bei 0°. Ob sie ausschließlich auf Verschiedenheiten des Quotienten F/G (jetzt: 0,14—0.28; früher: etwa 0,56) zurückgeführt werden können, erscheint zweifelhaft. Von der früher angewandten Umrechnung auf „Idealkurven" sind wir abgekommen, da die Verbesserung der Versuchsbedingungen einen direkten Vergleich der einzelnen Reihen ermöglicht. Dies gilt besonders für Diagramme mit der relativen Feuchtigkeit als Abszisse.

Versuche in feuchten Kammern. Die Versuche mit Fleischzylindern, die sich an die Verhältnisse im praktischen Kühlbetrieb anlehnen, können natürlich keine genauen Zahlen über die wahre Begrenzung des Bakterienwachstums durch die relative Feuchtigkeit liefern, weil das Gleichgewicht zwischen den Konzentrationsverhältnissen an der Fleischoberfläche und der relativen Feuchtigkeit des umgebenden Luftraumes. von einzelnen Ausnahmen abgesehen, innerhalb der Versuchsdauer nicht erreicht wird.

Es wird bei Versuchsbeginn unmittelbar an der Fleischoberfläche vermutlich eine relative Dampfspannung von etwa 99,2% herrschen, wenn man von der Konzentration des Fleischsaftes ausgeht, aus dessen Gefriertemperatur den Dampfdruck berechnet und zum Sättigungsdruck über Wasser in Beziehung setzt (Heiß 1933).

Ist die relative Feuchtigkeit der umgebenden Luft geringer, so wird zwar durch Verdunstung ein Ausgleich angestrebt, der aber durch Diffusion von Flüssigkeit aus dem Fleischinnern an die Oberfläche verzögert wird. Erst nach längerer Zeit und bei starken Dampfdruckdifferenzen tritt eine Konzentrierung und Austrocknung in den Oberflächenschichten ein, was zum Teil auf Erschöpfung des Vorrates an leicht beweglichem Wasser im Innern, zum anderen wahrscheinlich auf eine irreversible Entquellung in den zunächst für das Bakterienwachstum in Frage kommenden Randschichten zuruckzuführen sein wird (vgl. S. 403).

Zur Ergänzung der Versuche an Fleischzylindern dienten Versuche in feuchten Kammern mit Fleischwassergelatine. Der verflüssigte Nährboden (Fleischbouillongelatine) wurde vor dem Ausstreichen auf das Deckglas der feuchten Kammer mit einer stark verdünnten Aufschwemmung von Fleischbakterien (Mikrokokkus-Stamm) geimpft. Die Versuchstemperatur betrug 18° C (± 0,5° C). Zur Vermeidung von Kondensationen mußten die Deckgläser durch Auflegen eines Wärme-isolierenden Deckels vor Temperaturschwankungen geschützt werden. Die Messung des Bakterienwachstums erfolgte in der Weise, daß der Umriß einzelner Kolonien an aufeinanderfolgenden Tagen bei stets gleicher Vergrößerung mit dem Zeichenapparat festgelegt und der um-

schlossene Flächeninhalt planimetrisch bestimmt wurde (Abb. 3). Infolge der geringen Schichtdicke des Substrates bei relativ sehr großer Oberfläche war anzunehmen, daß der Ausgleich der Feuchtigkeiten sehr rasch erfolgen mußte. Mit abnehmender relativer Feuchtigkeit ist das Flächenwachstum durch zunehmende Steigerung des osmotischen Druckes und durch Plasmaentquellung stark gehemmt. Auch die endgültige Große der Kolonie nimmt mehr und mehr ab (vgl. Rippel 1925). In der Nähe des unteren Grenzwertes kommt es zur Ausbildung zahlreicher Involutionsformen.

Ob das optimale Wachstum mit dem Höchstwert der relativen Feuchtigkeit (100%) zusammenfällt, ließ sich mit dieser Methode nicht feststellen, da schon bei 99% relativer Feuchtigkeit das Wachstum so rasch vor sich geht, daß es zu keiner eigentlichen Koloniebildung mehr kommt, vielmehr bereits nach ungefähr 48 Std. das Nährsubstrat verflüssigt ist.

Die niedrige Lage des unteren Grenzwertes bei ungefähr 93% relativer Feuchtigkeit steht in Widerspruch zu dem von Walter (1924, 1926) gefundenen Wert von 96—97%, der sich auf verschiedene Luftbakterien (Bact. prodigiosum, Micrococcus roseus) bezieht. Ein direkter Vergleich mit den Werten anderer Forscher (Löhnis 1913, Schlitzler 1905, Spickermann und Bremer 1902, Weigert 1904, Wolf 1899) ist nicht möglich. weil meistens nur die Wachstumsintensität in Abhängigkeit vom prozentualen Wassergehalt des Substrates angegeben wird und weil trotz gleicher Wassergehalte die Dampfdrucke an der Oberfläche ganz verschieden sein können.

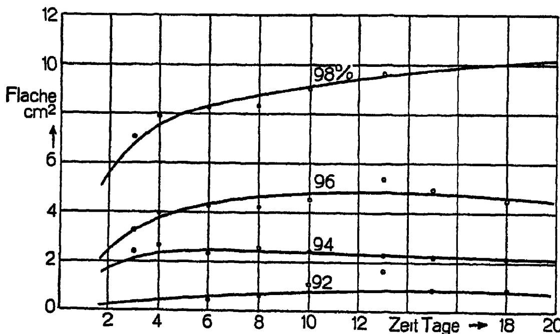


Abb. 3. Flachenwachstum von Bakterienkolonien in Abhangigkeit von der relativen Feuchtigkeit.

Der Unterschied zwischen den von Walter und von uns festgestellten unteren Grenzwerten kann mit der Verwendung verschiedener Bakterienarten zusammenhängen. Außerdem muß folgendes erwogen werden:

Walter läßt das Nährsubstrat antrocknen, bevor er es der gewünschten relativen Feuchtigkeit über Schwefelsäure-Wasser-Gemischen aussetzt. In dieser Maßnahme liegt möglicherweise ein Fehler. Aus Versuchen von Tomkins (1928, 1929) an Schimmelpilzen geht hervor, daß die Werte für das Wachstum der Kolonie bei Verwendung von vorgetrocknetem Agar unter sonst gleichen Bedingungen niedriger liegen als auf nicht vorgetrocknetem Agar. Die Erscheinung ist vermutlich so zu erklären, daß die Wasseraufnahme des vorgetrockneten Quellkörpers sehr langsam vonstatten geht, so daß sich an seiner Oberfläche zur Zeit der Wachstumsmessung noch nicht die gewünschte relative Feuchtigkeit eingestellt hatte. Auch bei Walters Versuchen könnte dies der Fall gewesen sein. Auf der anderen Seite wäre es ebenso möglich, daß bei unseren Versuchen, bei denen sich die Gleichgewichtseinstellung von der anderen Seite her durch Entquellung des Substrates abspielt, in den unteren Feuchtigkeiten von 92 und 94% auch noch kein vollkommener Ausgleich stattgefunden hat,

daß also an der Substratoberfläche eine höhere relative Feuchtigkeit herrschte als die Solekonzentration angibt, mithin das Wachstum in Wirklichkeit bei höheren Feuchtigkeitswerten bestimmt wurde. Daß der Ausgleich der Dampfspannungen von Substratoberfläche und Salzlösung selbst in den feuchten Kammern noch sehr langsam vor sich geht, zeigt das Schwinden der Kolonieflächen nach einiger Zeit bei Feuchtigkeiten unterhalb 96%, das wahrscheinlich auf eine allmähliche Schrumpfung von Substrat und Kolonie zurückzuführen ist.

Auffällig bleibt allerdings, daß selbst bei einer relativen Feuchtigkeit von 92% ein Wachstum in Gang kommt, das nach einer Versuchsdauer von 6 Tagen meßbare Werte erreicht.

Eine endgültige Klärung wird hier wie bei der Frage nach dem Verhalten der Schimmelpilze in der Nähe des Sättigungswertes (vgl. Schwartz und Kaeß 1934) erst bei Verwendung einer anderen Versuchstechnik zu erwarten sein.

b) Bei bewegter Luft. Es war zu erwarten, daß sich der Einfluß der Luftbewegung auf das Bakterienwachstum weniger in einer unmittelbaren Beeinflussung als auf dem Weg über die Veränderung der Verdunstungsvorgänge[1]) an der Fleischoberfläche bemerkbar machen würde.

Im Bereich bis 85% relativer Feuchtigkeit aufwärts findet man diese Erwartung bestätigt (Abb. 4). Dagegen zeigte sich von 90% an aufwärts bei aufgezwungener Strömung sogar eine fördernde Wirkung der Luftbewegung. Wir vermögen uns diese Erscheinung nur so zu erklären, daß die Belüftung zu einer besseren Sauerstoffversorgung der in den ersten Abschnitten der Fleischzersetzung vorherrschenden aeroben Bakterien führt. Auch bei verdunstungsfreier Lagerung in wasserdampfgesättigter Luft ist diese Wirkung der Luftbewegung vorhanden. Die Unterschiede gegenüber gleichzeitig angestellten Kontrollen mit ruhender Luft sind allerdings gering. Es läßt sich innerhalb des geprüften Bereichs auch keine eindeutige Beziehung zur Luftgeschwindigkeit finden.

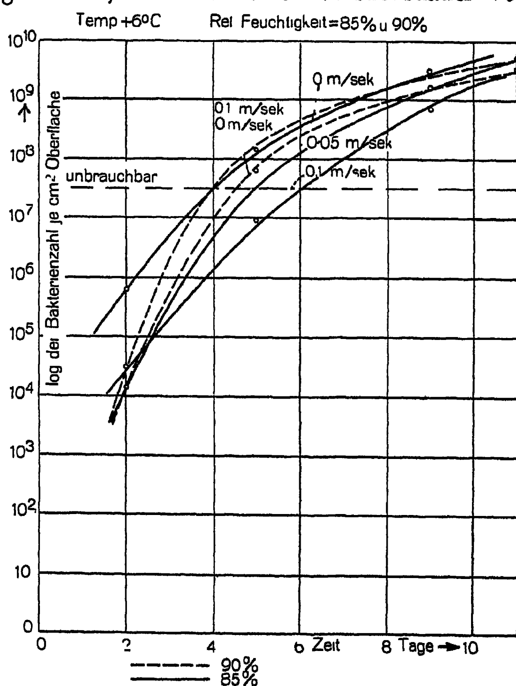


Abb. 4. Einfluß der Luftbewegung auf das Bakterienwachstum bei t = + 6°. Luftgeschwindigkeit 0,05 und 0,1 m/sek. Kontrolle: bei ruhender Luft.

[1]) Abgesehen von Versuchen mit 100% relativer Feuchtigkeit wird die Verdunstung erhöht, die Oberfläche trocknet also rascher ab und die Bakterienentwicklung sollte rascher gehemmt werden.

2. Die Verdunstung in Abhängigkeit von den Außenbedingungen.

Die schon bekannten Meßwerte von Gewichtsverlusten an Kühlfleisch sind zahlenmäßig nicht ausreichend und auf die hier vorliegenden Verhältnisse (Modellkörper aus reinem Muskel ohne Fett und Bindegewebe) nicht übertragbar. Sie konnten daher zu den mikrobiologischen Versuchen nicht in Beziehung gesetzt werden.

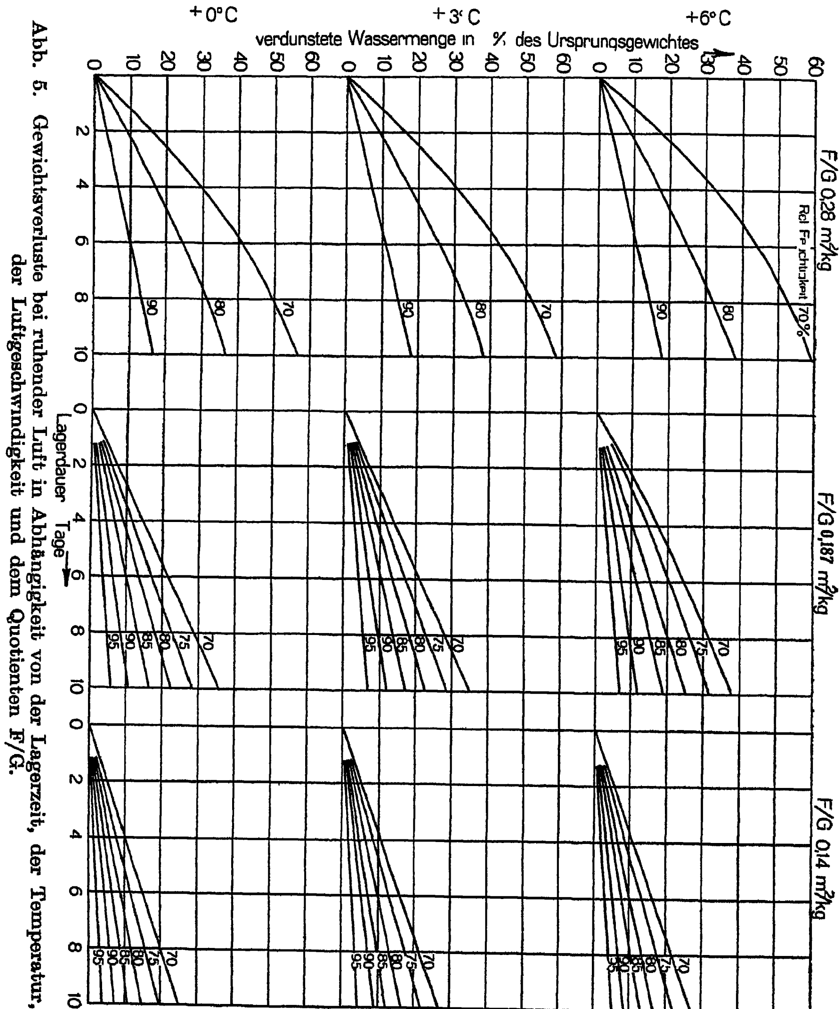


Abb. 5. Gewichtsverluste bei ruhender Luft in Abhängigkeit von der Lagerzeit, der Temperatur, der Luftgeschwindigkeit und dem Quotienten F/G.

Unsere Versuche erstreckten sich auf den Einfluß der Temperatur, der relativen Feuchtigkeit, der Luftbewegung und des F/G-Quotienten. Als Maßstab diente der infolge der Verdunstung sich einstellende Gewichtsverlust, bezogen auf das Ausgangsgewicht der Modellkörper (Abb. 5, 6).

In den ersten Tagen ergibt sich bei ruhender Luft, besonders bei den höheren Feuchtigkeiten und bei kleinem F/G ein nahezu geradliniger Ver-

lauf der Verdunstungskurven. Später tritt bei großem F/G und bei geringer relativer Feuchtigkeit eine Verzögerung der Verdunstung ein. Ein großer Teil des im Fleisch enthaltenen Wassers wird offenbar nur sehr locker festgehalten und daher leicht abgegeben, während der Rest nur schwer verdunstet[1]).

Es zeigt sich, daß vor allem die relative Feuchtigkeit und das Verhältnis von Oberfläche zu Gewicht, die Verdunstung beeinflussen. Die unmittelbare Wirkung der Temperatur ist in dem hier geprüften Bereich sehr gering. Luftbewegung wirkt bei sonst gleichen Bedingungen beschleunigend mit zunehmender Luftgeschwindigkeit.

3. Lagerzeit, Bakterienentwicklung und Gewichtsverlust.

Die durch die Bakterientätigkeit hervorgerufenen Veränderungen im Aussehen, Geruch und in der chemischen Zusammensetzung des Kühlfleisches, können annähernd proportional der Zahl der Organismen gesetzt werden. Einige Tausend Keime je qcm verursachen noch keine wahrnehmbare Qualitätsverschlechterung, erst bei in die Millionen gehenden Bakterienzahlen tritt auch eine makroskopisch sichtbare Abweichung von der ursprünglichen Beschaffenheit der Fleischoberfläche in Erscheinung.

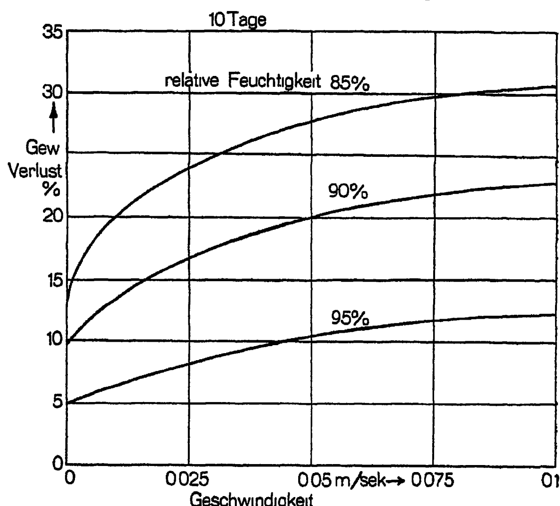


Abb. 6. Gewichtsverluste nach einer Versuchsdauer von 10 Tagen in Abhängigkeit von der Luftgeschwindigkeit bei verschiedenen relativen Feuchtigkeiten der Luft.

Die ersten Anzeichen der am Aussehen und am Geruch feststellbaren Wertminderung führten zur Festsetzung der oberen Haltbarkeitsgrenze (maximale Lagerdauer), der eine Übergangszone vorausgeht. Die Haltbarkeitsgrenze liegt bei Keimgehalten zwischen 10 und 100 Millionen Keimen je qcm Oberfläche und ist in den graphischen Darstellungen als strichpunktierte Linie eingezeichnet (siehe Abb. 1, 2, 4). Die maximalen Lagerzeiten für die einzelnen Luftzustände

[1]) Es kann sich bei diesem Rest um „gebundenes Wasser" (vgl. Hill 1930, ferner Walter 1931) handeln. Es wäre aber auch denkbar, daß die Diffusionsgeschwindigkeit der Flüssigkeit vom Innern an die Randzone geringer ist als die Verdunstungsgeschwindigkeit und somit allmählich eine Abtrocknung der Oberfläche erfolgt. Dadurch wird der Filtrationswiderstand erhöht und der Nachschub von Wasser aus dem Innern erschwert. Ein bei niedriger Luftfeuchtigkeit und hoher Luftgeschwindigkeit aufbewahrter Fleischzylinder (F/G = 0,14) zeigte nach mehrtägiger Lagerung einen Wasserverlust von 60%. Eine getrennte Bestimmung des Wassergehaltes in der scharf abgegrenzten, etwa 2 mm dicken, eingetrockneten Randzone und in der mittleren Zone ergab dort einen Wasserverlust von 42%, hier einen solchen von 5%.

werden sich alsdann als Schnittpunkte der Vermehrungskurven mit dieser Grenzlinie ergeben (Abb. 7).

Hieraus erweist sich der Einfluß der Temperatur als in erster Linie entscheidend, demgegenüber jener der relativen Feuchtigkeit etwas zurücktritt, wenigstens in den in der Kühlhaustechnik üblichen Bereichen. Dies kommt besonders bei hohen Temperaturen zum Ausdruck, bei denen die anfängliche Wachstumsintensität so groß ist, daß die Wirkung der relativen Feuchtigkeit gar nicht zur Geltung kommt.

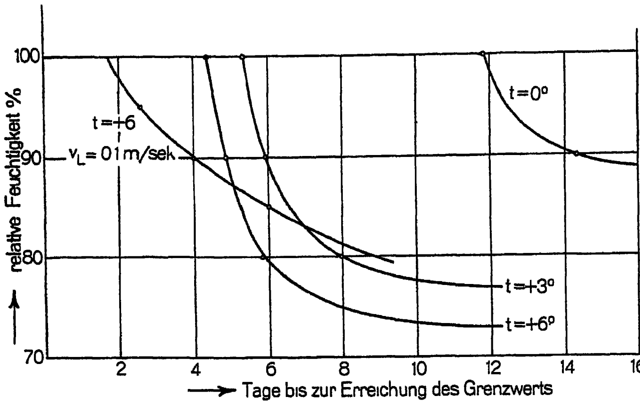


Abb. 7. Maximale Lagerdauer bei verschiedenen relativen Feuchtigkeiten und Temperaturen und bei ruhender und bewegter Luft (Luftgeschwindigkeit: 0,1 m/sek.).

Dagegen ist der Einfluß der Luftbewegung in unseren Versuchen gering zu bewerten. In der Praxis liegen die Verhältnisse insofern anders, als durch Luftumwälzung im Kühlraum die Bildung von Zonen höherer Luftfeuchtigkeit in toten Winkeln verhütet wird.

Wollte man einen Gewichtsverlust während der Lagerung vollständig ausschließen, so müßte man eine relative Feuchtigkeit von etwa 99,3% in den Lagerräumen einhalten. Mit Rücksicht auf das Bakterienwachstum ist jedoch eine so hohe Feuchtigkeit nicht zulässig, ein bestimmter Gewichtsverlust also unvermeidbar. Die mikrobiologische Untersuchung hat ergeben, wie die Zustandsgrößen der Luft beschaffen sein müssen, wenn eine bestimmte Lagerdauer des Kühlgutes gewährleistet sein soll (vgl. Abb. 7). Aus den Verdunstungsmessungen geht hervor, welcher Gewichtsverlust bei dem betreffenden Luftzustand zu erwarten ist (vgl. Abb. 5). Dieser Gewichtsverlust muß unter den gegebenen

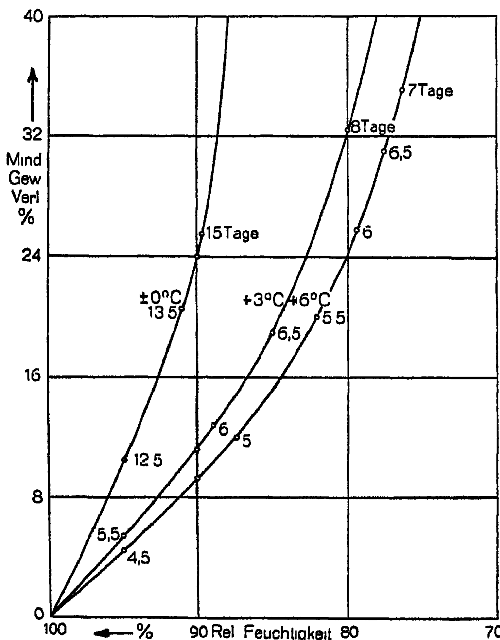


Abb. 8. Mindestgewichtsverluste bei F/G = 0,28 in Abhängigkeit von Temperatur und relativer Feuchtigkeit. Die Zahlen an den Kurven geben die erreichte Lagerdauer in Tagen an.

Versuchsbedingungen als „Mindestgewichtsverlust" angesehen werden. Die maximale Lagerdauer (Haltbarkeit) läßt sich also als Parameter in Abhängigkeit vom Mindestgewichtsverlust und von der relativen Feuchtigkeit darstellen (Abb. 8).

Beispiel: Bei + 3° C und einer relativen Feuchtigkeit von 90% ergibt sich eine höchste Lagerdauer von 5,9 Tagen (vgl. Abb. 7). Unter den gleichen Bedingungen entsteht ein Gewichtsverlust (Mindestgewichtsverlust) von 11,2% (vgl. Abb. 5, F/G = 0,28).

Vergleicht man die für die maximalen Lagerzeiten und für die Gewichtsverluste ermittelten Werte mit den bei der praktischen Kühllagerung gemachten Erfahrungen, so ergibt sich, daß in beiden Richtungen die Verhältnisse in der Praxis im allgemeinen als günstiger bezeichnet werden. Die Ursache hierfür liegt vielleicht in der Größe und Beschaffenheit unserer Versuchsstücken, denn außer einem kleineren Quotienten von F/G muß auch berücksichtigt werden, daß wir im Experiment mit allseitig freien Muskeloberflächen gearbeitet haben, während bei den Tierhälften der Praxis große Teile der Oberfläche durch Fett und Bindegewebe geschützt sind.

Über Versuche in gewerblichen Kühlräumen mit dem Ziel, die Laboratoriumsversuche zu den Verhältnissen in der Praxis in Beziehung zu setzen, wird der eine von uns (Loeser) an anderer Stelle berichten[1]).

IV. Zusammenfassung.

1. Bakterienwachstum und Verdunstung lassen sich durch Regelung des Luftzustandes innerhalb der bei der Kühllagerung zulässigen Grenzen nicht verhindern.

2. Da die Entwicklung der Bakterien mit sinkender Temperatur stark gehemmt wird, ist es zweckmäßig, die Temperatur möglichst weit zu senken. Mit Rücksicht auf den bei ungefähr — 1° C liegenden Gefrierpunkt des Fleisches und eine für Schwankungen vorgesehene Toleranz wird die Temperatur am besten auf ± 0° C festgesetzt.

3. Die Feuchtigkeit soll so weit erhöht werden, wie es auf Grund der Zusammenhänge zwischen Bakterienwachstum und relativer Feuchtigkeit noch zulässig ist. Bei den üblichen Lagerzeiten ergibt sich als obere Grenze ein Wert von etwa 90%. Die unter diesen Bedingungen auftretenden Gewichtsverluste sind „Mindestgewichtsverluste", die sich nicht vermeiden lassen.

4. Die Luftbewegung hat für den eigentlichen Lagerungsvorgang nur eine untergeordnete Bedeutung. Sie soll in erster Linie eine gleichmäßige Einhaltung des Luftzustandes in allen Teilen des Lagerraumes gewährleisten.

Literaturverzeichnis.

Estor, W., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 72. 1922. S. 411. — Heiss, R., „Die Wärme". (Ztschr. f. Dampfkessel- u. Maschinenbetrieb. Bd. 56. 1933. S. 72.) — Hill, A. V., Proc. Royal Soc. 1930. 106, B, 477. — Kaeß, G., und Schwartz, W., Arch. f. Mikrobiol. Bd. 5. 1934. S. 443. — Linge, K., Beihefte z. Ztschr. f. d. ges. Kälteindustrie. Reihe 2. H. 7. 1933. — Löhnis, Vorlesungen über Landwirtschaftliche Bakteriologie. 1913. — Rippel, A., Wachstumsgesetze bei höheren und niederen Pflanzen. München-Freising 1925. — Schlitzler, Diss.

[1]) Haltbarkeit von Fleisch in gewerblichen Kühlräumen. (Ztschr. V.D.J. 1935 im Druck; ferner Deutsche Schlachthofzeitschrift. 1935 im Druck.)

Wurzburg 1905. — Schwartz, W., und Kaeß, G., Arch. f. Mikrobiol. Bd. 5. 1934. S. 157. — Schwartz, W., und Schmid, W., Ibid. Bd. 2. 1931. S. 568. — Spieckermann und Bremer„ Landw. Jahrb. Bd. 31. 1902. S. 81. — Tomkins, R. G., Report of the Food Investigation Board 1928. 1929. — Walter, H., Die Hydratur der Pflanze. Jena 1931. — Walter, H., Ztschr. f. Bot. Bd. 16. 1924. S. 353; Ztschr. f. Pflanzenernahrung. Teil A. Bd. 6. 1926. S. 65. — Weigert, Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 36. 1904. S. 112. — Wolf, Arch. f. Hyg. Bd. 34. 1899. S. 200.

Untersuchungen über Zusammenhänge zwischen Vorkommen von Azotobacter, Wachstumszustand der Reben und Unkrautflora im Weinbaugebiet der Mosel, Saar und Ruwer.

[Aus der Zweigstelle der Biologischen Reichsanstalt in Berncastel-Cues a. d. M. Leiter: Regierungsrat Dr. Zillig.]

Von **Ludwig Niemeyer.**

Es ist bekannt, daß das Vorkommen von Azotobacter im Boden in hohem Maße von der physikalischen und chemischen Beschaffenheit dieses Bodens abhängig ist. Daher wird das Fehlen bzw. die Häufigkeit des Bakteriums im Ackerboden bei der Beurteilung seines Düngungs- und Kulturzustandes mit verwertet und nach dem heute allerdings nicht mehr häufig benutzten Azotobacter-Verfahren kann auf solche Weise ein vielfach ausreichendes Bild über den Gehalt des Bodens an bestimmten Nährstoffen gewonnen werden (1, 4).

Weinbergsböden aus dem Gebiet der Mosel, Saar und Ruwer wurden von Zillig und Herschler (9) untersucht. Kalkbedürftig in der Oberkrume (untersucht nach Scheibler) waren an der Untermosel etwa 64, an der Mittelmosel, Saar und Ruwer etwa 35% der Böden, Mangel an Phosphorsäure (untersucht nach Lemmermann) zeigten 40—45 bzw. 15%. Die nach dem vergleichsweise angewendeten Azotobacter-Verfahren gefundenen Zahlen der kalk- bzw. phosphorsäurebedürftigen Böden lagen noch höher. Die auf verschiedenen Wegen gefundenen Werte stimmen für Kalk zu etwa 61, für Phosphorsäure zu etwa 60% gut überein. Feststellungen über die natürliche Verbreitung des Bakteriums im Gebiet lagen bisher nicht vor. In den Jahren 1930—1933 wurden deshalb hauptsächlich im Frühjahr aus verschiedenen Weinbergen an Mosel, Saar und Ruwer Bodenproben gesammelt und auf das Vorkommen von Azotobacter geprüft.

Das Ziel der Arbeit war also zunächst, ein Bild von der Verbreitung des Bakteriums in diesem Gebiet zu gewinnen. Außerdem sollte geprüft werden, ob Gesetzmäßigkeiten zwischen dem Azotobacter-Vorkommen und dem Wachstumszustand der Reben einerseits und der Unkrautflora anderseits bestehen und Aufschluß über den Düngungszustand der Weinberge geben.

Der Nachweis des Azotobacter erfolgte in Flüssigkeitskulturen in 100-ccm-Erlenmeyerkolben aus Jenaer Glas, die jeweils 25 ccm folgender Nährlösungen enthielten:

I. Leitungswasser . . .	1000	II. Lösung I mit $CaCO_3$ . . .	5
Mannit	20		
K_2HPO_4	0,2		
Na_2SO_4	0,2		

Die Kolben wurden mit Wattestopfen verschlossen und im Autoklaven 20 Min. bei 1,5 Atm. sterilisiert. Die Höhe der Flüssigkeitsschicht betrug etwa 1 cm. Über Brauchbarkeit und Vorzüge der Elektivkultur in Nährlösung zum Nachweis von Azotobacter wurde neuerdings von Wenzl (7) berichtet.

Ein Zusatz von 0,02% Na_2SO_4 zu der Beijerinckschen Nährlösung (Nährlösung I) ergab in Kulturen von 25 verschiedenen Bodenproben nach der bekannten Bewertung der Azotobacterhaut mit Zahlen 0 bis 4 einen Durchschnittswert von 3 gegenüber 1,8 ohne Na_2SO_4, in der Nährlösung II 3,2 gegenüber 2,2. Zusätze von 0,04 und 0,08% Na_2SO_4 hatten in Vergleichskulturen mit denselben Böden keine bessere Wirkung als 0,02%. Bei dieser Konzentration ging die Azotobacterentwicklung in kürzester Zeit vor sich.

Nährlösung II erhielt den $CaCO_3$-Zusatz, weil durch die Tätigkeit der Mikroflora mancher Böden die Reaktion der Nährlösung I so schnell ungünstig geändert wird, daß Azotobacter sich nicht mehr entwickelt.

Bei der Entnahme der Bodenproben wurde mit einer kleinen Hacke ein etwa 20—25 cm tiefes Loch geschlagen, dessen eine Längsseite eine Bruchfläche bildete, die mit der Hacke selbst nicht in Berührung gekommen war und von der mit einem sterilisierten Präparatenglase von 15 cm Länge und 2,5 cm Durchmesser ohne Gefahr der Infektion eine Bodenprobe entnommen werden konnte. Die Gläser waren mit einem Wattebausch verschlossen und zu etwa $^3/_4$ ihrer Länge mit einer fest darumgerollten, oben geschlossenen Papierhülle bedeckt und so im Trockenschrank 20 Min. lang auf 120° erhitzt worden. Hülle und Wattestopfen wurden unmittelbar vor der Probeentnahme abgezogen und danach sogleich wieder aufgesetzt. Da die Weinbergsböden durchschnittlich 65, ja bis 82% Steingehalt aufweisen (9), war das Einholen der Proben hier ungleich schwieriger als auf Ackerböden, aber bei einiger Vorsicht doch durchführbar.

Möglichst am Tage nach der Entnahme wurden von den Bodenproben je 5 g in die wie oben angegeben mit Nährlösung I und II vorbereiteten Erlenmeyerkolben gegeben und im Brutschrank bei ± 28° aufgestellt.

Die Bewertung der Azotobacter-Vegetation erfolgte täglich vom 2. bis zum 6. Tage. Bildete sich keine Azotobacter-Haut, so wurde die mehr oder weniger getrübte Nährlösung mikroskopisch auf Azotobacter untersucht.

Tab. 1. Herkunft der Bodenproben und Mittelwerte der Azotobacter-Entwicklung.

Gebietsabschnitt	Anzahl der		Prozentzahl der Weinbergslagen mit den Mittelwerten				
	Bodenproben	Lagen	0	1	2	3	4
Untermosel (Koblenz—Alf/Bullay)	259	37	8	16	35	30	11
Mittelmosel (Alf/Bullay—Trier)	678	69	32	25	19	10	14
Saar	148	10	20	50	20	10	0
Ruwer	60	6	0	0	33	50	17
Obermosel (oberh. Trier)	34	2	0	0	0	100	0

Aus einer Weinbergslage bzw. einzelnen Parzellen einer Lage wurden je nach der Größe bis zu 53 Proben entnommen. In manchen Fällen handelte es sich dabei um dicht beieinanderliegende Parzellen in gutem und schlechtem

Zustand. Meistens stammten aus einer Parzelle etwa 10 Proben von verschiedenen Stellen. Aus den Ergebnissen dieser Einzelproben wurde ein Mittelwert errechnet.

Die Herkunft der untersuchten Proben aus den Abschnitten des Weinbaugebietes an Mosel, Saar und Ruwer geht aus der folgenden Zusammenstellung hervor. Außerdem ist angegeben, wieviel Prozent der Weinbergslagen die Mittelwerte 0 bis 4 erreicht haben (Tab. 1).

Aus dem Gebiet der Untermosel, wo die Reben hauptsächlich an steilen, steinigen Hängen aus langsam verwitternden Grauwackenschiefern und Quarziten des Unterdevon wachsen, wiesen 3 Lagen (= 8%) den Wert 0 auf, waren aber nach der mikroskopischen Untersuchung der Einzelkulturen doch nicht ganz frei von Azotobacter.

An der Mittelmosel, Saar und Ruwer stehen die Rebstöcke zumeist auf Verwitterungsschutt aus Hunsrückschiefer des Unterdevon. Von den untersuchten Weinbergslagen erhielten 24 (= 28%) den Mittelwert 0, enthielten aber bis auf einige mit stark sauren, z. T. auch frisch gerodeten Böden doch mehr oder weniger viele Azotobacterflocken in den Kulturen.

Aus den auf Kalkverwitterungsböden der Trias stehenden Weinbergen der Obermosel konnten infolge umfangreicher Reblaus-Verseuchung nur zwei Lagen mit dem Mittelwert 3 untersucht werden.

Der Höchstwert der Azotobacter-Entwicklung wurde unter den im ganzen untersuchten 124 Weinbergslagen nur 15 mal (= 12%) errechnet. Die meisten (82 = 66%) ergaben die Werte 1, 2 und 3.

Die Untersuchung von 1179 Bodenproben aus 124 Weinbergslagen der Mosel, Saar und Ruwer zeigt also, daß Azotobacter nur in seltenen Fällen im Boden fehlt, aber auch nicht oft zu üppiger Entwicklung kommt, sondern meist in mittleren Mengen vorhanden ist. Als Hauptursache hierfür wird man die von Zillig und Herschler (9) neben Phosphorsäure- und Humusmangel vielfach festgestellte, durch Kalkarmut bedingte, saure Reaktion des Bodens anzusehen haben. In einigen nicht bearbeiteten, sehr festen Weinbergsböden war auch die Durchlüftung (3, 5) unzureichend. Die Nachweiskulturen der betreffenden Parzellen blieben ohne Azotobacter-Vegetation, während nach Beimpfung mit einer Azotobacter-Rohkultur in den Nährlösungen I und II die Mittelwerte 3 bzw. 4 erreicht wurden. Bei normaler Bearbeitung des Erdreichs ist jedoch in den steinigen Devonböden eine mangelhafte Durchlüftung nicht zu befürchten, eher schon in den schweren bindigen Triaskalkböden der Obermosel.

Tab. 2. Wachstumszustand der Reben und Mittelwerte der Azotobacter-Vegetation.

Wachstumszustand der Reben	Anzahl der Lagen	Von 100 erreichten den Mittelwert					Gesamtmittelwert
		0	1	2	3	4	
gut	73	23	26	22	15	14	1,8
mittelmäßig . . .	19	16	11	26	32	16	2,2
schlecht	29	27	27	21	21	3	1,5
insgesamt	121	23	25	22	20	11	

Eine Zusammenstellung der Lagen nach dem Wachstumszustand der Reben enthält die Tab. 2. In manchen Fällen mußten mehrere untersuchte Parzellen einer Lage gesondert bewertet werden, weil sie durch guten bzw. schlechten Stand der Reben auffielen. Die Anzahl der Lagen oder Parzellen

ist bei der Angabe der Mittelwerte zum besseren Vergleich in Prozent ausgedrückt.

Unter den Lagen bzw. Parzellen, die einen guten Wachstumszustand der Reben aufwiesen, hatte ein großer Teil (23%) den Mittelwert 0, nicht wesentlich weniger als unter den Parzellen mit schlechtem Rebwuchs (27%). Die Prozentzahlen der mit 4 bewerteten Lagen mit gutem und schlechtem Rebstand zeigen, daß gute Lebensbedingungen für Reben und Azotobacter nur verhältnismäßig selten zusammentreffen, in einzelnen Fällen aber auch reichlich Azotobacter bei schlechtem Rebstand vorkommt. Nach der Tab. 2 haben sowohl gut wie schlecht stehende Weinberge meistens eine geringe bis mittlere Azotobacter-Vegetation, während bei mittelmäßigem Rebstand die Mehrzahl der Parzellen etwas über dem Mittelmaß steht. Die Gesamtdurchschnittswerte ergeben ein gleichartiges Bild: die im Rebstand schlechten Weinberge zeigen mit 1,5 den geringsten Mittelwert, die guten mit 1,8 einen etwas höheren, während die mittelmäßigen bis auf 2,2 kommen.

Aus den Ergebnissen kann gefolgert werden, daß Nährstoffmangel nicht sehr oft die Ursache für schlechte Azotobacter-Vegetation im Weinbergsboden ist, da die Rebe selbst in dieser Beziehung hohe Anforderungen stellt. Anders liegen die Verhältnisse bezüglich der Bodenreaktion. Während die Sorte Riesling der edlen Weinrebe (Vitis vinifera) optimales Wachstum bei etwa p_H 6 zeigt (9), liegt das Optimum der Azotobacter-Entwicklung nahe bei p_H 7 (6). Aus Zeitmangel konnten die p_H-Werte der Bodenproben nicht festgestellt werden.

An den untersuchten Böden war keine eindeutige Beziehung zwischen Wachstumszustand der Reben und Azotobacter-Vorkommen zu erkennen.

Die Zahl der typischen Weinbergsunkräuter, die beim Einsammeln der Bodenproben in mehr oder weniger dichten und reinen Beständen angetroffen wurden, war verhältnismäßig klein. Trotzdem soll geprüft werden, ob Beziehungen zwischen Unkrautflora, Vorkommen von Azotobacter und Wachstumszustand der Reben bestehen (Tab. 3).

Tab. 3. Unkraut, Azotobacter-Vorkommen und Wachstumszustand der Reben.

Hauptunkraut	Anzahl der untersucht. Parzellen	%-Zahl der Parzell. mit d. Rebstand			%-Zahl der Parzellen mit dem Mittelwert					Ges. Mittelwert
		gut	mittel	schlecht	0	1	2	3	4	
Stellaria media	30	57	30	13	27	10	13	27	23	2,0
Ranunculus repens	16	56	6	38	56	13	0	18	13	1,2
Senecio vulgaris	10	50	40	10	20	10	20	30	20	2,1
Allium vineale .	9	67	22	11	11	11	0	33	44	2,8
Lamium purpureum	8	13	63	25	50	0	13	25	13	1,5
Gramineen . .	8	75	13	13	63	13	0	0	25	1,2
Valerianella olitoria	6	50	33	17	33	17	33	17	0	1,2

Das in den Bodenlagen der Mosel, Saar und Ruwer am häufigsten anzutreffende Unkraut ist Stellaria media, die in manchen Frühjahren bereits vom Januar ab den Boden mit einem dichten grünen Teppich überzieht. Nach v. Linstow (2) gehört Stellaria media zu den Ammoniak- und Salpeterpflanzen. Sie wächst als solche hauptsächlich in gut mit Stallmist gedüngten Weinbergen und wurde in reinem Bestand in 7 Par-

zellen angetroffen. In allen anderen Fällen waren auch gleichzeitig andere Unkräuter in mehr oder weniger großer Anzahl vorhanden. Eine Zusammenstellung der Parzellen, in denen Stellaria in größerer Menge wuchs, ließ zwischen ihr und dem Vorkommen von Azotobacter keine strenge Gesetzmäßigkeit erkennen. Immerhin enthielten rund 90% der von Stellaria bewachsenen Böden Azotobacter.

Nach Tab. 3 wächst das Unkraut einerseits auf Böden, die das Bakterium in großer Menge enthalten und für sein Gedeihen günstig sind, anderseits aber auch in solchen, die bei Zusatz einer elektiven Nährlösung keine oder nur eine schwache Azotobacter-Vegetation liefern. Die häufigsten Begleitunkräuter waren Ranunculus repens, Lamium purpureum, Senecio vulgaris und Allium vineale.

Ranunculus repens wurde in reinem Bestand oder als Hauptunkraut neben Stellaria in 16 Parzellen festgestellt. Die übrige Unkrautflora war in ihrer Zusammensetzung stark wechselnd. Nach v. Linstow (2) enthält Ranunculus repens in den Parenchymzellen der Stiele und Blätter große Mengen löslicher Phosphate. Die Mehrzahl der Parzellen befand sich nach dem Wuchs der Reben in gutem Düngungszustand, während die Azotobacter-Vegetation sehr schlecht war.

Senecio vulgaris kam in größeren Mengen in 10 Parzellen vor, davon in zweien in reinem Bestand, sonst mehr oder weniger stark vermischt mit Ranunculus, Allium und anderen Unkräutern. Das Azotobacter-Vorkommen in diesen Parzellen erreichte mit 2,1 einen verhältnismäßig hohen Mittelwert. Das Wachstum der Reben war gut oder mittelmäßig und nur in einem Falle schlecht zu nennen.

Allium vineale bildete den Hauptunkrautbestand in 9 Weinbergen und wurde zumeist von Stellaria, Ranunculus und Senecio begleitet. Die Parzellen erreichten von allen verunkrauteten mit 2,8 den höchsten Mittelwert. Der Wachstumszustand der Reben war auch besser als in den meisten anderen Gruppen.

Lamium purpureum wuchs in größeren Mengen in 8 Parzellen mit Stellaria, Ranunculus und verschiedenen anderen Unkräutern ziemlich stark vermischt. Der Rebstand war in den betreffenden Parzellen, die zu denen mit der geringsten Azotobacter-Menge gehörten, am schlechtesten.

Verschiedene Gramineen mit Stellaria, Ranunculus und anderen Unkräutern gemischt, standen in größeren Mengen in 8 Parzellen. Im Mittel lieferten diese neben anderen die geringste Azotobacter-Vegetation, hatten aber den besten Rebstand aufzuweisen.

Valerianella olitoria wuchs zahlreich mit Stellaria, Lamium, Sonchus, Ranunculus und anderen Unkräutern in 6 Weinbergen, die bei einer etwas anderen Verteilung der Mittelwerte dasselbe Gesamtmittel lieferten, wie die vorhergehende Gruppe.

Die vorliegenden Ergebnisse lassen Beziehungen zwischen Unkrautflora, Azotobacter-Vorkommen und Wachstumszustand der Reben in den untersuchten Böden nicht mit Sicherheit erkennen. Ob durch eine größere Zahl von Untersuchungen überhaupt praktisch verwertbare Beziehungen festgestellt werden können, erscheint fraglich.

Literatur.

1. Becker, E., Vergleichende Untersuchungen und Versuche mit verschiedenen Methoden für Bestimmung des Nährstoffbedürfnisses der Böden an Phosphorsäure und Kali. (Pflanzenernährung u. Düngung. A. Bd. 13. 1929. S. 274—294.) —

2. Linstow, O. v., Bodenanzeigende Pflanzen. Berlin 1929. 246 S. — 3. Niemeyer, L., Azotobacter-Studien. (Botanisches Archiv. Bd. 7. 1924. S. 347—374.) — 4. Niklas, H., Pürckhauer, R., und Poschenrieder, H., Beziehungen zwischen pflanzenaufnehmbarer (wurzellöslicher) Phosphorsäure und geologischer Bildung des Bodens. (Pflanzenernährung u. Düngung. A. Bd. 9. 1927. S. 136—160.) — 5. Niklas, H., Über die Verbreitung des Azotobakters im Boden unter Berücksichtigung der dabei maßgebenden Verhältnisse. (Stoklasa-Festschrift. Berlin 1928. S. 279—288.) — 6. Stapp, C., und Ruschmann, G., Zur Biologie von Azotobacter. (Arb. a. d. Biol. Reichsanst. Bd. 13. 1925. S. 305—368.) — 7. Wenzl, H., Zur Methodik der Keimzahlbestimmung von Azotobacter im Boden. (Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 90. 1934. S. 289—314.) — 8. Zillig, H., Die Weinbergsunkräuter an Mosel, Saar und Ruwer. (Weinmarkt. Trier 1923. Bd. 43. S. 129—131.) — 9. Zillig, H., und Herschler, A., Bodenuntersuchungen zur Klärung von Wachstumsstörungen im Weinbaugebiet der Mosel, Saar und Ruwer. (Arb. Biol. Reichsanst. Bd. 18. 1931. S. 507—581.)

Referate.

Bücher, Institutsberichte usw.

Ragaller, Franz, Der Abbau. Eine entwicklungsgeschichtliche Studie zum Senilitäts- und Fortpflanzungsproblem. Jena 1934. 85 S. Verlag Gustav Fischer. Preis brosch. 5,60 RM.

Die vorliegende, rein theoretisch-spekulative Abhandlung bringt wieder einmal den Versuch, die Erscheinung, die der Landwirt bei der Kartoffel als Abbau bezeichnet, im Rahmen allgemeinerer biologischer Vorstellungen, gleichsam von höherer Warte aus, zu behandeln. Im Anschluß an Morstatt (1925) gliedert Verf. seine Ausführungen in vier Abschnitte, nämlich: 1. Abbau und Degeneration (2 Seiten), 2. Abbau und Altern (66 Seiten), 3. Abbau und Anpassung (6 Seiten), 4. Abbau und Krankheiten (5 Seiten). Als wichtigstes Ergebnis seiner gelehrten Betrachtungen ist wohl die Feststellung anzusehen, daß bei der Kartoffel eine „Altersdegeneration" bei entsprechender Einwirkung der Umwelt, also „aus ökologischen Gründen" eintreten könne. Dabei soll es sich um eine Verhinderung der Verjüngung handeln. Man wundert sich besonders über den geringen Umfang des 4. Abschnitts (Abbau und Krankheiten), zumal bekanntlich bestimmte Viruskrankheiten, also Infektionskrankheiten, von einer Reihe von ernsthaften Forschern (u. a. Quanjer, Murphy, Schultz, Folsom, Whitehead, R. N. Salaman, K, M. Smith, die allerdings mit Ausnahme von Quanjer nicht zitiert werden) als wichtiger Faktor wenn nicht als die eigentliche Ursache des Abbaues in Anspruch genommen werden. Wer also glaubt, in der Schrift eine Stellungnahme zu der in der Pflanzenpathologie herrschenden „Virustheorie" des Kartoffelabbaus zu finden, wird enttäuscht sein. Diese Auseinandersetzung soll späteren Abhandlungen vorbehalten bleiben, in denen Verf. auch seine eigenen Versuche und Beobachtungen zu schildern gedenkt. Köhler (Berlin-Dahlem).

Tschelnitz, H., Strahlenforschung im Dienste der Biologie; mit einem Geleitwort von Jul. Stoklasa. 62 S. Leipzig (R. M. Rohrer) 1934. Preis 2.50 RM.

Eine für jeden Biologen interessante Lektüre. In 4 Abschnitten — Jahrhundertwende und Weltbildwechsel, Strahlen als Lebenserwecker, Strahlen als Lebenserhalter, Strahlen aus Tiefen und Höhen — wird dargetan,

daß die Strahlenforschung als unentbehrliche Mittlerin für die Erkenntnis biologischer Abläufe anzusehen sei. In fesselnder Weise und mit guter Kritik werden die modernen Arbeiten auf dem Gebiete der Radiologie in Beziehung gebracht zum gesamten Leben in und auf der Erde, und es wird anderseits nicht verfehlt, auch auf gefährliche Auswüchse in dieser Richtung hinzuweisen. So heißt es S. 47: „Zählen die . . . von Pohl behandelten Erdstrahlen zu den angsterweckenden Fiktionen, so sind es anderseits die von Georges Lakhovsky (Paris) angegebenen Schwingungskreise, die den Schwindel auf flinke Beine stellen" und Verf. ist nur beizustimmen, wenn er sagt: „Es ist . . . verständlich, daß wir das Moment des Geheimnisvollen, Mystischen, Metaphysischen niemals gänzlich aus unserem Denken ausschalten können. Beim künstlerisch tätigen Menschen ist es ja sogar der Urquell seines Schaffens; in der „exakten" Wissenschaft aber dürfte es, mögen Intuition und Phantasie gewiß auch hier befruchtend wirken, nicht zu absurdhaltlosen Spekulationen verleiten." Stapp.

Fischer, R., Watzl., O. und Beran, F., Der Pflanzenarzt im Schreber- und Hausgarten. Leipzig-Wien-Berlin (Steyrermühl-Verlag). 223 S. 1.80 RM.

Ein für den Praktiker recht brauchbares Büchlein, das diesem die notwendigen Kenntnisse über Pflanzenkrankheiten und Schädlinge und ihre wirksame Bekämpfung in knapper und klarer Form vermittelt.

Stapp.

Allgemeines und Methodisches.

Kollath, W. und Rittner, E., Eine einfache Methode, das Schwärmen des Proteus zu verhindern. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 132. 1934. S. 181—183.)

Behandelt man die Oberfläche der gebräuchlichen Nährböden 2 Min. mit 96 proz. Alkohol und läßt man die Platten dann 5—15 Min. bei 37° trocknen, so wird die Mehrzahl der Proteusstämme im Schwärmen gehindert, und andere Bakterien können bequem isoliert werden. Für die Trennung der Typhus-Ruhr-Gruppe von Proteus auf Endoplatten müßte das Verfahren weiter ausgebaut werden, da die Proteusbakterien auf Endo bekanntlich ebenfalls farblos wachsen. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

David, H., Über ein einfaches und sicheres Verfahren zur Geißeldarstellung. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 132. 1934. S. 240—243.)

Die Methode stellt eine Kombination der Verfahren nach Gray und Zettnow dar. Die Präparate werden nach Gray gebeizt und hernach nach Zettnow versilbert. Was diese Methode besonders auszeichnet, ist der in der Regel glasklar erscheinende Untergrund, wenn auch die Bakteriengeißeln mehr braun und nicht so ausgesprochen schwarz erscheinen wie in guten, aber bedeutend schwieriger herzustellenden „Zettnowpräparaten". Der Gang der Methodik muß wegen der vielen genau zu beachtenden Einzelheiten im Original eingesehen werden.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Konrich, F., Über Keimgehalt und Entkeimung von Alkohol. (Arbeiten a. d. Reichsgesundheitsamt. Bd. 67. 1934. S. 271—276.)

Der Handelsalkohol ist in verschiedenem Grade, durchgehend aber

ziemlich stark mit Keimen versetzt. Einzelne der untersuchten Proben enthielten bereits in jedem Kubikzentimeter mindestens einen Keim, in 5 ccm alle Proben. Es handelte sich dabei um Stäbchen, meistens mit Sporen; Kokken wurden niemals gefunden. Die Entwicklungsfähigkeit der Keime war durchaus gut, am ersten oder zweiten Tage war meist bereits Wachstum eingetreten. Zum Keimfreimachen stehen zwei Wege offen: die Destillation und die keimfreie Filtration. Erstere ist zu umständlich, ihre sterile Durchführung nicht immer gewährleistet. Die keimfreie Filtration dagegen ist einfach und sehr zuverlässig. Am zweckmäßigsten haben sich, insbesondere für größere Flüssigkeitsmengen, die E. K.-Filter (Seitz) erwiesen. Die im Beginn einmal sterilisierte Scheibe kann längere Zeit ohne neue Sterilisation benutzt werden. Die Sterilität blieb z. B. erhalten bei täglicher Benutzung während einer Woche und nach weiteren 1—2 Wochen Stehenlassen ohne Benutzung. Ein Durchwachsen der Keime durch die Filterscheibe, wie das bei Wasser der Fall sein könnte, findet bei Alkohol nicht statt.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Fernbach, H., Ein neuer Ultrafiltrationsapparat. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 132. 1934. S. 249—256.)

Eingehende Beschreibung einer Methode, aus Kollodium Ultrafilter in Säckchenform von beliebiger Größe und Festigkeit serienweise herzustellen. Außerdem wird eine Apparatur angegeben, die bei Verwendung dieser Filter die Ultrafiltration großer Mengen, ferner mehrere Ultrafiltrationen verschiedener Stoffe nebeneinander in gleicher Zeit und bei gleichem Druck erlaubt. Das zur Ultrafiltration nötige Vakuum kann durch jede Saugpumpe bei Anbringung von Regulations- und Unterbrechungsvorrichtungen hergestellt werden. Die entsprechenden Vorrichtungen bei Benutzung einer Ölpumpe und bei gleichzeitiger Absaugung an mehreren Apparaten durch eine Vakuumleitung werden näher beschrieben.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Dold, H. und **Leusden, P.**, Neuartige Arbeitstische für bakteriologische Kurse. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 132. 1934. S. 126—128.)

Es handelt sich um Tische in Form regelmäßiger Vielecke mit zentraler Beleuchtung und zentraler Wasser-, Gas und Abflußleitung. Sie haben sich im Gebrauch sehr bewährt. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Rodenbeck, H., Über die thermische Sterilisation wasserfreier Stoffe und die Resistenz einiger Bakterien bei Erhitzung in solchen Stoffen. (Archiv f. Hyg. u. Bakt. Bd. 109. 1933. S. 67—83.)

Die Sterilisation der wasserfreien Stoffe (Öl, Fett, Paraffin, Glyzerin und Cumol) kann entweder über offenem Feuer bei Temperaturen von 140—200° während 5—45 Min. erfolgen oder besser (wegen Erhaltung ihrer ursprünglichen Beschaffenheit) bei niedrigeren Temperaturen im Autoklav. Hierzu ist allerdings ein geringer Wasserzusatz nötig. Man sterilisiert: Fett, Öl und Paraffin mit 0,1% Wasserzusatz entweder 30 Min. bei 120° oder 10 Min. bei 130°; Glyzerin mit 12% Wassergehalt 1 Std. bei 130°, bei höherem Wasserzusatz kürzere Zeit. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Helly, K., Verschlußringe für Fornetsche Kulturröhrchen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 132. 1934. S. 248—249.)

Die von Fornet angegebenen Kulturröhrchen mit Glaskappenverschluß an Stelle des sonst üblichen Wattebausches haben sich Verf. ausgezeichnet bewährt. Ist schon die Ersparnis an Arbeitszeit und Material bei der Herstellung zur Gebrauchsfertigkeit eine erhebliche, so wird diese Ersparnis noch dadurch erhöht, daß die durch längere Zeit fortgezüchteten Bakterienstämme ein viel selteneres Überimpfen benötigen, weil infolge der sehr geringen Verdunstung der Nährbodenfeuchtigkeit die Kulturen viel länger lebensfähig bleiben. Kleinere Röhrchen, etwa von der Größe der Wassermannröhrchen, eignen sich sehr gut zur Abfüllung vorrätig zu haltender Nährbodenzusätze, wie Blut, Serum, Galle. Für Dauerkulturen oder Kulturen, die wie bei der Züchtung von Tuberkelbazillen gewöhnlich mit Siegellack oder Paraffinbausch verschlossen werden, werden luftdichte Verschlüsse erzielt durch 4—5 cm lange Schläuche aus Paragummi von gleichem Durchmesser wie die verwendeten Kulturröhrchen. Die Gummiringe werden bis zum Gebrauch zwecks Keimfreihaltung in reinem Glyzerin aufbewahrt und dann über den unteren Glaskappenrand und über das Röhrchen gezogen. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Pels Leusden, F., Gefahren beim Hantieren mit hochevakuierten Gefäßen und ihre Verhütung. (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 110. 1933. S. 61—63.)

Wenn hochevakuierte größere Glasgefäße, wie sie zur Züchtung von Anaerobiern verwendet werden, zu Boden fallen und platzen, können, wie praktische Versuche ergaben, Personen durch umhergeschleuderte Splitter verletzt werden, wozu möglicherweise eine Infektion durch gefährliches Material kommt. Diese Gefahren können praktisch dadurch beseitigt werden, daß man hochevakuierte Gefäße nur in einem Beutel aus festem Segeltuch transportiert. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Damm, H., Über eine neue Wasserprobenahmeflasche für die periodische Kontrolle des Molkereigebrauchswassers. (Archiv f. Hyg. u. Bakt. Bd. 109. 1933. S. 365—367.)

Aus einer großen Anzahl von Wasseruntersuchungen, deren Entnahme mittels des beschriebenen Apparates erfolgt war, ergab sich, daß bei sachgemäßer Probenahme und Eisfüllung die Unterschiede zwischen der Keimzahlbestimmung an Ort und Stelle und derjenigen nach etwa 24 Std. im Institut unwesentlich waren. Insbesondere war dies bei verhältnismäßig keimarmen Proben festzustellen. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.)

Protodiakonow, O. P., Materialien zur Untersuchung der Zitronensäureerzeugung. (Bull. of the State Inst. of Agric. Microbiol. USSR. Vol. 5. 1933. p. 231—258.) [Russ. m. deutsch. Zusfassg.]

Das mikrobiologische Verfahren zur Gewinnung von Zitronensäure nach S. Kostytschew wurde mit halb-fabrikmäßigen Apparaturen im Laboratorium geprüft. Ein bestimmter Typus solcher Apparaturen mit flachen durch Röhren miteinander verbundenen Gärküvetten ergab sehr gute Ausbeuten, so daß die Versuche mit diesem Apparat in halb-fabrikmäßige Bedingungen übertragen werden können.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Cohn, M. L., The antiseptic effect upon tubercle bacilli of certain recently-advocated compounds. (Journ. of Bact. Vol. 27. 1934. p. 517—526.)

Die üblichen Methoden zur Feststellung der antiseptischen Wirkung versagen bei der Prüfung von Tuberkelbakterien, da diese durch ihr langsames Wachstum und durch ihre Ansprüche an die Nährböden sich von fast allen anderen Bakterienarten unterscheiden. Für die Prüfung wurde deshalb eine neue Methodik ausgearbeitet, die eine einwandfreie Bestimmung der Hemmungs- und Tötungswerte, sowie die Bestimmung der bakteriziden Wirkung bei Gegenwart von Blut gestattet. Als Nährboden für die Züchtung nach der Prüfung wurden Kristallviolett-Kartoffelnährböden verwendet. Im Gegensatz zu früheren Untersuchungen war es mit der neuen Methodik möglich, auch mit relativ geringen Bakterienmengen einwandfreie Ergebnisse zu erhalten. „Merthiolat“ und „Metaphen“ erwiesen sich auch bei Anwesenheit von Blut als außerordentlich wirksam, während Di-Hydranol und Hexylresorzin sich unter diesen Bedingungen als weitgehend unwirksam zeigten, obgleich sie bei Abwesenheit von Blut sehr gute Abtötungswirkung besaßen. Richter (Kiel).

Thiele, H., Neuartiges Gefäß zur einwandfreien Entnahme und Beförderung von Wasser und anderen Flüssigkeitsproben für die bakteriologische Untersuchung. (Archiv f. Hyg. u. Bakt. Bd. 112. 1934. S. 260—262.)

Die Unzulänglichkeiten der gebräuchlichen Entnahmegefäße (gewöhnliche Flaschen mit eingeschliffenem, flachen Glasstopfen) vermeidet das im Kieler Hygienischen Institut verwendete Gefäß mit sog. „Kappenstopfen“. Der Stopfen besitzt eine angeschmolzene Kappe, die ein Stück über Hals und Stopfen der Flasche übergreift. Damit sind die gefährdeten Teile vor unbeabsichtigter Berührung und Verunreinigung geschützt. Um für die Entnahme die Flasche zu öffnen, braucht man nun nicht mehr mit spitzen Fingern unter größter Vorsicht den Stopfen abzunehmen, sondern kann ohne weiteres mit der ganzen Hand die Kappe fest umfassen und den Kappenstopfen abnehmen. Wie Versuche zeigten, wird beim Öffnen, Füllen, Schließen und Verpacken dieses Gefäßes auch bei ganz sorgloser Behandlung durch Unkundige weder Stopfen noch Hals berührt und verunreinigt — wenn nicht geradezu böse Absicht vorliegt. Dagegen war früher beim Öffnen des Gefäßes, besonders durch Hände, die gröbere Arbeit gewöhnt sind, immer die Gefahr vorhanden, daß die Finger über den Stopfen hinübergriffen und Stopfenteil und Hals berührten. Für kurze Zeit kann der Stopfen mit der Kappenseite nach unten auch aus der Hand und auf den Tisch gelegt werden. Mit den bisher gebräuchlichen Stopfen war dies kaum möglich. Um zu verhindern, daß der Stopfen bei der Beförderung sich von der Flasche löst, ist am Flaschenhals ein Glaswulst anbringbar. Durch leicht zu befestigende Metallklammern oder -federn, oder auch durch Überstreifen einer Hülse aus Papier usw. und Verschnüren am Flaschenhals in der Vertiefung zwischen Wulst und Flaschenkörper läßt sich der Stopfen fest auf der Flasche halten. Nicht unwichtig ist, daß die Herstellung des Kappenstopfens nicht schwieriger ist als die der üblichen Flachstopfen und dementsprechend die Anschaffungskosten nicht wesentlich höher. Das Reinigen bereitet keinerlei Schwierigkeiten. — Flaschen mit Griffstopfen nach Damm sind in bezug auf eine mögliche Berührung und dadurch bedingte Verunreinigung noch ungünstiger als die gewöhnlichen flachen Stopfen. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Jennison, M. W., A note on the Richards-Jahn photoelectric nephelometer. (Journ. of Bacter. Bd. 28. 1934. p. 107—109.)

Bei der Verwendung des photoelektrischen Nephelometers ist außer den Abweichungen, die durch die wechselnde Große der Teilchen hervorgerufen werden, zu beachten, daß die Lichtabsorption nicht bei allen Dichten einer Bakterienaufschwemmung der Zahl der Organismen direkt proportional ist. Verf. konnte bei seinen Untersuchungen feststellen, daß diese einfache Beziehung nur bei Keimzahlen bis zu 100 000 000 Keimen im Kubikzentimeter Geltung hatte. Dieser Fehler laßt sich durch Anwendung eines Korrektionsfaktors ausschalten. Richter (Kiel).

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virus-Untersuchungen.

Dieckmann, H., Neuere Untersuchungen über den O_2-verbrauch von Mikroorganismen. (Arbeiten aus dem Reichsgesundheitsamt. Bd. 67. 1934. S. 333—351.)

Eine Eigenart des bakteriellen Stoffumsatzes besteht darin, daß die als Energiequellen festgestellten chemischen Verbindungen (Zucker, Alkohol, organische Säuren, ihre Abbaustufen oder ihnen sonst nahestehende Substanzen) den bakteriellen Stoffumsatz vielfach erheblich zu steigern vermogen. Dies widerspricht dem Rubnerschen Gesetz von der spezifisch-dynamischen Wirkung der Eiweißstoffe und ihrer Abbauprodukte, der Aminosäuren. Nach diesem Gesetz wird der nicht verwertete Überschuß an aufgenommenen Kohlehydraten und Fetten in den Gewebszellen abgelagert, ohne eine erhebliche Wirkung auf den Stoffwechsel auszuuben, wahrend stickstoffhaltigen Verbindungen eine solche Wirkung, im Sinne einer allgemeinen Stoffwechselsteigerung, in hohem Grade zukommt. Mannsfeld und Horn deuten zwar eine bei ihren Untersuchungen an Mäusetyphusbazillen beobachtete Erscheinung als mit dem Gesetz der spezifisch-dynamischen Wirkung irgendwie in Beziehung stehend, ihre Versuche sind jedoch nicht uberzeugend. Rodenkirchen (Konigsberg i. Pr.).

Yamagutchi, S., Über die Beeinflussung der Sauerstoffatmung von verschiedenen Bakterien durch Blausäure und Kohlenoxyd. Beiträge zur Atmungsphysiologie der Bakterien. I. (Acta Phytochim. Vol. 8. 1934. No. 1. p. 157—172.)

Verf. untersuchte den Einfluß von Blausäure und Kohlenmonoxyd auf die Atmung verschiedener Bakterien, um die einzelnen Cytochromtypen und Vorgänge bei der Atmung miteinander zu vergleichen und ihre Zusammenhänge aufzudecken. Zu diesem Zwecke benutzte er 25 aerobe bzw. fakultativ anaerobe Bakterienarten. Im Warburg-Manometer wurden O_2-Verbrauch, CO_2-Abgabe, Blausäure- und Kohlenoxydhemmung gemessen, außerdem Bestrahlungsversuche mit einer 100-Watt-Lampe gemacht. Durch ihr verschiedenes Verhalten gegen HCN und CO ermittelte Verf. 4 Gruppen: 1. Beide Stoffe waren ohne nachteiligen Einfluß auf die Atmung. Hierzu gehörten z. B. Micrococcus ochraceus und Sarcina lutea, Bakterien, die auffallende Farbstoffbildung zeigten: die Atmung war sogar gesteigert. 2. Die Atmung wurde nur durch HCN (in $^1/_{2500}$ mol. Lös.) gehemmt. Hierher gehörten u. a. Micrococcus agilis, Sarcina aurantiaca, Bac. pyocyaneus und Bac. fluorescens liquefaciens wie auch alba. 3. Beide Gase wirkten hemmend auf die Atmung, wobei diejenige durch CO mittels Belichtung nicht rück-

gängig gemacht werden konnte. Zu dieser Gruppe zählten u. a. Bact. coli comm., Bac. myc., Bac. prot. vulg., Azotobacter chroococc. 4. Die CO-Hemmung konnte durch Belichtung wieder rückgangig gemacht werden, z. B. bei Staphylocc., Bac. mes. u. a. Verf. schließt aus diesen Tatsachen, daß das Cytochrom a mit CO eine photochemisch leicht zersetzbare Verbindung eingeht, z. B. bei Gruppe 4; daß die b-Komponente sich sowohl mit HCN wie auch mit CO verbindet (Gruppe 3), wobei die CO-Verbindung photochemisch nur schwer angreifbar ist; und schließlich, daß die C-Komponente sich wohl mit HCN, aber nicht mit CO verbindet (Gruppe 2). Skallau (Berlin).

Mohr, W., Untersuchungen über antagonistische Vorgänge zwischen Varianten desselben Stammes. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 116. 1934. S. 289—294.)

Es wurde bei einer Reihe von Bakterien untersucht, ob sich antagonistische Vorgänge zwischen Varianten abspielen, die von demselben Stamm ausgehen. Keine gegenseitige Beeinflussung zeigten die rot wachsende und die farblos wachsende Variante eines Prodigiosus-Stammes. Bei einem Typhusstamm erwies sich die unbegeißelte Form der begeißelten uberlegen. Besondere Aufmerksamkeit wurde Versuchen mit Glatt- und Rauhformen geschenkt, da es von Wichtigkeit ist, ob die Konkurrenzfähigkeit der Keime im Nährboden in Beziehung steht zur Wuchsform. Im allgemeinen zeigte sich, daß die Glattformen die antagonistisch wirksameren sind. Eine besonders bemerkenswerte Abweichung stellt die Rauhform eines Stammes aus der Paratyphusgruppe dar, die sowohl den homologen wie auch den heterologen Glattformen deutlich überlegen war. Es kann demnach, wie bereits Neufeld und Kuhn betont haben, Virulenz und antagonistische Wirksamkeit nicht gleich gesetzt werden.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Lohmann, R., Manometrische Untersuchungen über Stoffwechsel und Wachstum von Bakterien unter dem Einfluß von ultraviolettem Licht und unter den Bedingungen der Entzündung. (Klin. Wochenschr. Jahrg. 13. 1934. S. 1112—1116.)

Stoffwechsel und Wachstum von Bakterien werden durch die Einwirkung körperfremder und körpereigener Faktoren weitgehend verändert, und unter bestimmten Bedingungen hören die Bakterien sogar vollständig auf zu atmen und zu spalten. Aber nicht alle Keime, die eine bestimmte Zeitlang keinen Stoffwechsel gehabt haben, sind auch im biologischen Sinne endgültig abgestorben; sie können im Zustand einer vita minima, sozusagen in einem Scheintod überdauern. Sogar aus einem so abgekapselten Milieu wie dem verkalkter tuberkulöser Drüsen gelingt es, virulente Tuberkelbazillen zu kultivieren. Wie ein solcher Scheintod eines Bakteriums bei völliger Abwesenheit jeder energieliefernden Reaktion möglich ist, ist noch rätselhaft. — Ultraviolette Strahlen haben gegenüber Bakterienwachstum und -stoffwechsel verschiedenartige Wirkung. Die energieliefernden Reaktionen bleiben bei einer bestimmten Strahlungsintensität unbeeinflußt, während das Wachstum aufhört. Der Stoff, der das Wachstum der Zelle bedingt, ist also nicht identisch mit den Stoffen, die Atmung und Gärung bewirken, sondern ist eine Substanz, die ultraviolettes Licht anders absorbiert als das Atmungs- und Gärungsferment. So ist es möglich, intra vitam diesen

Wachstumsstoff von den beiden Stoffwechselfermenten zu isolieren. Da die Bakterienzelle den Wachstumsstoff immer wieder von neuem aufbaut, so beginnt das Wachstum stets wieder nach kürzerer oder längerer Zeit, je nach der Dauer der Strahleneinwirkung.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Hoffstadt, R. E., and Youmans, G. P., The genetic significance of the dissociants of Staphylococcus aureus. (Journ. of Bact. Vol. 27. 1934. p. 551—560.)

Zu den Versuchen wurden 2 Stämme von St. albus und 4 Stämme von St. aureus verwendet. Sämtliche Stämme wurden vor Versuchsbeginn sorgfältig auf ihre Reinheit geprüft. Als Nährboden wurde LiCl-Nährboden und gewöhnliche Bouillon von einem $p_H = 7{,}8$ benutzt. Die Überimpfung fand täglich statt, ebenso wurde täglich durch Agar-Ausstriche auf das Auftreten von Dissoziationsformen geprüft. Bei der Prüfung zeigte eine der St. albus-Kulturen Abspaltung von G-Formen, ebenso gelang es, bei sämtlichen St. aureus-Stämmen Aufspaltung zu erzielen. Die Spaltungsformen unterschieden sich durch ihr Farbstoffbildungs- und ihr Gärvermögen von den Ausgangsformen und stellten stabilisierte Endformen dar. Mit der Zunahme des Gärvermögens ging eine Abnahme der Virulenz parallel.

Richter (Kiel).

Naidu, P. M. N., Zur Hämolyse der Staphylokokken in Schafblutagarplatten. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 132. 1934. S. 47—56.)

Pathogene Staphylokokken lassen sich nach ihrem Wachstum auf 5 proz. Schafblutagarplatten in 6 verschiedene Typen einteilen. Von Bedeutung ist, daß Stämme gleicher Herkunft hinsichtlich ihres Verhaltens auf der gewählten Blutplatte weitgehende Übereinstimmung zeigten. Es besteht also die Möglichkeit, mit Hilfe der Blutplatte eine Unterscheidung der verschiedenen Staphylokokken nach ihrer Herkunft durchzuführen, was morphologisch und kulturell bekanntlich nicht gelingt.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Edwards, P. E., and Broh-Kahn, R., A note on the hydrolysis of sodium hippurate by the hemolytic streptococci. (Journ. of. Bact. Vol. 27. 1934. 535—538.)

Die Frage, ob hämolytische Streptokokken durch ihr Spaltungsvermögen gegenüber hippursaurem Natrium in Stämme menschlichen und tierischen Ursprungs getrennt werden können, war auf Grund der bisherigen Untersuchungen nicht mit Sicherheit zu entscheiden. Verff. unterzogen eine Reihe von Stämmen menschlichen und tierischen Ursprungs der Prüfung auf Vergärungsvermögen unter Verwendung der von Klimmer und Haupt angegebenen Methodik. Es zeigte sich hierbei, daß auf Grund des Vergärungsvermögens eine Trennung beider Gruppen nicht möglich ist, da in beiden Gruppen sich Stämme mit und ohne Vergärungsvermögen gegen hippursaures Natrium finden. Von Klimmer zur Verfügung gestellte Stämme besaßen Vergärungsvermögen, gehörten aber nicht in die Gruppe der schwach säuernden Streptokokken.

Richter (Kiel).

Großmann, H., Zur Frage der experimentellen Abwandlung („Degradation“) von Angehörigen der Streptokokkengruppe. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 1932. 1934. S. 40—47.)

Die Dauerzüchtung von 3 Pneumokokkenstämmen, einer fraglichen Pneumokokkenvariante und 3 Stämmen von Streptococcus viridans auf flüssigen Nährböden verschiedener Zusammensetzung über 6—13 Monate ergab früher oder später das Auftreten atypischer Keime, die gegenüber dem Ausgangsstamm Veränderungen in kultureller, biochemischer, morphologischer und pathogenetischer Beziehung aufwiesen. Diese Keime werden als saprophytäre Varianten des Ausgangsstammes gedeutet, es kommen ihnen Eigenschaften zu, wie sie bei Enterokokken bekannt sind. Danach ist es nicht unmöglich, daß ein Teil der „natürlichen" Enterokokken seine Entstehung solchen Vorgängen verdankt. Zur Vermeidung dieser Abwandlung erwies sich besonders geeignet die Symbiose mit Bact. alcaligenes in Bouillon mit einem Gehalt von 5% Pepton, wobei die hauptsächlichsten biologischen Eigenschaften über längere Zeit erhalten blieben. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Lange, B., Abtötungsfestigkeit und Entwicklungsfestigkeit.. Experimentelle Untersuchungen an in vitro gegen Optochin gefestigten Pneumokokken. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 116. 1934. S. 225—240.)

Die Divergenz der abtötenden und entwicklungshemmenden Wirkung der verschiedenen Desinfektionsmittel (es gibt Mittel, die in verhältnismäßig kurzer Zeit in bestimmten Konzentrationen Mikroorganismen abtöten, in schwächeren Konzentrationen aber die Vermehrungsfähigkeit auch bei langer Einwirkung nicht aufzuheben vermögen, während im Gegensatz hierzu andere Mittel noch in sehr starken Verdünnungen entwicklungshemmend wirken, aber in stärkeren Konzentrationen nur mangelhaft eine Abtötung herbeiführen) hat zu der Auffassung geführt, daß Entwicklungshemmung und Abtötung Vorgänge der Bakterienschädigung sind, die sich nicht nur quantitativ, sondern auch qualitativ voneinander unterscheiden. Experimentell schien diese Annahme, wenigstens in quantitativer Hinsicht eine Bestätigung gefunden zu haben durch Kappus, der zu dem Ergebnis kam, daß Colistämme, deren Entwicklungsfestigkeit gegen Malachitgrün künstlich stark erhöht war, sich diesem Mittel gegenüber im Abtötungsversuch wie die Ausgangsstämme verhielten. Wie aber Verf. an Pneumokokken zeigen konnte, die gegen Optochin gefestigt wurden, besteht doch ein allerdings nur unter ganz bestimmten Versuchsbedingungen deutlich werdender Parallelismus zwischen Entwicklungsfestigkeit und Abtötungsfestigkeit. Noch ungelöst bleibt die Frage über Gleichartigkeit oder Ungleichartigkeit der der Entwicklungshemmung und der Abtötung zugrunde liegenden chemisch-physikalischen Vorgänge.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Tatum, E. L., Peterson, W. H., and Fred, E. B., An unknown factor stimulating the formation of butyl alcohol by certain butyric acid bacteria. (Journ. of Bacter. Vol. 27. 1934. p. 207—217.)

Das Vorhandensein von Wachstumsfaktoren in den verschiedensten organischen Materialien für Bakterien und Hefen ist bekannt, die Art und Verbreitung der einzelnen Faktoren ist dagegen bisher nur wenig untersucht worden. Durch frühere Untersuchungen ist z. B. bekannt, daß Buttersäurebakterien auf Kartoffelbrei besser wachsen und mehr Gärungsprodukte bil-

den als auf Roggennährböden. Verff. stellten sich die Aufgabe, zu untersuchen, auf welchen Faktor dieser Unterschied zurückzuführen ist und in welchen Naturprodukten dieser Faktor sich findet. Zu den Untersuchungen wurden 8 Stämme von Buttersäurebakterien verwendet. Orientierende Versuche ergaben, daß die begünstigende Wirkung des Kartoffelbreies sich nur auf die Bildung von Butylalkohol erstreckte, und daß sie nicht bei allen Stämmen in gleichem Maße vorhanden war. Der unbekannte Faktor findet sich im eiweiß- und kohlehydratfreien Saft und ist hitzeresistent. Außer in Kartoffeln konnte er in Yams, Orangen, Salat, Kohl, Luzerne, Sojabohnen, Weizen und Malzkeimen in verschiedener Menge nachgewiesen werden. Durch den Faktor wird die Ausnutzung der Stärke begünstigt und die Ausbeute an Butylalkohol z. T. auf das Zehnfache gesteigert.

Richter (Kiel).

Flynn, C. S., and Rettger, L. F., Variation and filterability Studies on Bac. mesentericus and vulgatus. (Journ. of Bact. Vol. 28. 1934. p. 1.)

Die Untersuchungen wurden mit 9 Stämmen verschiedener Herkunft durchgeführt. Es gelang, durch Auswahl verschiedener Kolonietypen und ständige Fortzüchtung derselben in 24 stünd. Intervallen bei allen Stämmen 4 Typen zu gewinnen, die als S-, rS-, sR- und R-Formen zu bezeichnen sind. Als normale Kolonietype muß die rS-Type angesehen werden. Die Erscheinungsformen der Kolonietypen werden kurz angegeben. Sämtliche 4 Typen erwiesen sich zwar als ausreichend stabil, doch wurde ihre Stabilität weitgehend von der Art des Nährbodens beeinflußt. Am stabilsten waren die rS und die sR-Typen. Durch Züchtung auf Nährböden mit 0,5 proz. LiCl-Zusatz konnten die Hadleyschen „G-Kolonien" erhalten werden, doch verliefen Versuche, hieraus filtrierbare Formen zu gewinnen, negativ. Das gleiche negative Ergebnis hatten Versuche, filtrierbare Formen unter dem Einfluß von Phagen zu erhalten. Verff. vertreten den Standpunkt, daß filtrierbare Formen bei den Stämmen nicht vorkommen, und daß in vielen Fällen eine mangelhafte Versuchstechnik das Vorkommen filtrierbarer Formen vorgetäuscht hat. Richter (Kiel).

Rizzi, J., Untersuchungen über die antagonistische Wirkung von Colibazillen verschiedener Herkunft. (Ztschr. f. Immunitätsforsch. u. exper. Therapie. Bd. 82. 1934. S. 380—385.)

Hochwertige Stämme vorausgesetzt, vermögen Colibazillen in vitro die vielfache Anzahl an Milzbrandbazillen zu vernichten. Typhusbazillen erwiesen sich etwas weniger empfindlich als Milzbrandbazillen. Der Antagonismus macht sich von dem Zeitpunkt an geltend, zu dem die eingeimpften Colibazillen sich zu vermehren beginnen. Nach der Herkunft am stärksten antagonistisch zeigten sich Colibazillen von gesunden erwachsenen Personen, erheblich schwächer wirkten Coli, die von Säuglingen oder Kranken stammten.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Schmidt-Kehl, L., Über Filtrierbarkeit und Größe des Bacterium coli. (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 111. 1934. S. 307—316.)

Es gibt vermehrungsfähige Colikeime, die an der Grenze der Sichtbarkeit und nach Berechnungen wohl auch noch darunter liegen. Solche sehr kleine Colikeime finden sich auch in Kulturen, die von einer großen

Zelle abstammen, wie auch umgekehrt von einer kleinen Zelle ausgehende Zuchten sehr große Formen enthalten. Zur Anreicherung der kleinen Formen hat sich die wiederholte Ausschleuderung bewährt. Geht man von sehr dichten Aufschwemmungen aus, so erhält man schon durch zwei Ausschleuderungen eine Suspension, die in der ganz überwiegenden Zahl der Versuche durch Berkefeldfilter von 2,7—4,5 μ Porenweite geht (bei einem etwa 5 Min. währenden Quecksilberdruck von 200 mm). Die filtrablen Formen zeigen nicht die geringsten biologischen Abweichungen von gewöhnlichem Coli. Ein keimdichtes Filter für Keime von der Größenordnung des Bact. coli muß also eine Porenweite unter 2 μ haben, um sicher keimdicht zu sein. Bei der Bestimmung der Porenweite muß die Kittstelle des Filters mit geprüft werden. Es zeigte sich hier wiederholt eine erheblich größere Durchlässigkeit. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Denecke, Experimentelle Versuche über verschiedene Giftigkeit von normalen und anormalen Colistämmen nach der Methode Catel und Pallaske. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 132. 1934. S. 163—166.)

Es konnten im Gegensatz zu anderen Verff. keine deutlichen graduellen Unterschiede in der Wirkung verschiedenartiger Colistämme auf den Darm lebender Meerschweinchen festgestellt werden. Vor allem war mit dieser Methode keine besonders starke Pathogenität der Dyspepsiecoli nachweisbar. Der unphysiologische Zustand, in den das Tier versetzt wird, das Trauma der Operation schädigen das Tier mehr und führen zu größeren nekrobiotischen, in ihrer Art unkontrollierbaren Veränderungen, als die durch die injizierten Colikeime verursachten, so daß feinere Unterschiede verschiedenartiger Pathogenität, falls vorhanden, bei der angewandten kurzen Einwirkungszeit nicht zur Geltung kommen.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Castro, U. V., Über das Vorkommen von Gelbkeimen des sogenannten Bact. typhi flavum in der Umwelt. (Dtsch. med. Wochenschr. Jahrg. 60. 1934. S. 1014—1016.)

Gelbkeime, nach Art des sog. „Bact. typhi flavum", konnten auf einer größeren Zahl (bei 29 von 50 Proben) pflanzlicher Nahrungsmittel (Salat, Früchte, Gemüse) nachgewiesen werden. Auch auf Blättern von Bäumen, Sträuchern und Blumen, sowie auf Pflanzenblüten, die vorher nicht vom Menschen berührt worden waren, sind Gelbkeime recht häufig (von 29 Proben 10 positiv). Mit Regelmäßigkeit (bei sämtlichen untersuchten 38 Proben) ließen sich typische Gelbkeime im Heu nachweisen, und zwar in großer Menge. Dieses reichliche Vorkommen von saprophytischen Gelbkeimen in der Natur und die vielseitigen Aufnahmemöglichkeiten durch den Menschen machen eine besonders kritische Beurteilung des Gelbkeimvorkommens beim Menschen notwendig. Eine Umwandlung in echte Typhusbakterien trat während der Untersuchung von 76 frisch isolierten Gelbstämmen in keinem Falle ein. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Castro, U. V., Über das Verhalten von Gelbkeimen vom Typus des sogenannten Bacterium typhi flavum. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 132. 1934. S. 1—4.)

Die ausgesprochene Empfindlichkeit der Gelbkeimstämme, von denen 103 geprüft wurden, gegenüber Galle ist ein wichtiges und anscheinend

konstantes Merkmal dieser Saprophyten. Sie unterscheiden sich auch hierin grundlegend von echten Typhusbakterien.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Castro, U. V., Variantenabspaltung von Gelbkeimbakterien in Rindergalle. Gelb- und blaßwachsende Gelbkeimvarianten ohne Schleimbildungsvermögen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 132. 1934. S. 4—8.)

Bei verschiedenen Gelbkeimstämmen traten unter dem Einfluß von Galle Varianten auf. In Abimpfungen aus gelbkeimbeimpfter Rindergalle auf Glyzerinagar mit 5% Glyzerin) wuchsen nebeneinander: große gelbe und blasse, sehr üppige schleimige Kolonien, kleine gelbe und blasse nichtschleimige Kolonien. Letztere blieben auch in weiteren 30 Glyzerinagarpassagen schleimlos. Mit dem Vorkommen solcher, auf Glyzerinagar schleimlos wachsender gelber oder blasser Varianten der Gelbkeime ist auch in der Natur zu rechnen, namentlich wohl nach Passagen durch Mensch oder Tier. Das „Fließphänomen" nach Sonnenschein (enorme Schleimbildung auf Glyzerinagar durch Gelbkeime) ist also kein absolutes Unterscheidungsmerkmal zwischen Gelbkeimen und Typhusstämmen (letztere nichtschleimige Kolonien bildend). Im übrigen aber ist das Schleimbildungsvermögen der Gelbkeime auf Glyzerinagar nicht etwa eine chemisch-physikalische Bedingtheit durch den Glyzeringehalt des Nährbodens, sondern eine biologische Funktion des Bakteriums, die durch Variation geändert oder verloren werden kann. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Rabe, F., Weitere Untersuchungen über das Vorkommen der Dold-Granula in Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 132. 1934. S. 167—176.)

Nach Untersuchungen an 68 Diphtherie- und 63 Pseudodiphteriestämmen scheinen die von Dold beschriebenen Granula (grüne Körnchen in gelbgefärbten Stäbchen bei Anwendung der sog. Dold-Färbung) nur (oder ganz vorwiegend) bei Diphtheriebazillen nnd atypischen Pseudodiphtheriebazillen (Übergangsstämmen?) vorzukommen, nicht aber (oder nur selten) bei den echten, d. h. in allen Merkmalen typischen Pseudodiphteriebazillenstämmen. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Allison, E. F., and Hoover, S. R., An accessory Factor for Legume Nodule Bacteria. Sources and Activity. (Journ. of Bact. Vol. 27. 1934. p. 561—581.)

Bereits in früheren Arbeiten konnte von Allison u. M. nachgewiesen werden, daß für die Entwicklung von Knöllchenbakterien in mineralischen Nährlösungen ein zur Gruppe der Co-Enzyme gehöriger Faktor notwendig ist. Durch die vorliegende Arbeit konnte der Beweis erbracht werden, daß dieser Faktor in relativ hoher Konzentration außer in Hefe noch in Zuckerrohrmelasse, Humussäuren und Eier-Albumin vorkommt. In geringer Menge findet er sich in Handels-Raffinade. Er läßt sich in Anreicherung durch alkoholische Extraktion aus Zucker und getrockneter Melasse gewinnen. Zusatz einer sehr geringen Menge eines derartigen Konzentrates ermöglicht den Knöllchenbakterien gutes Wachstum in rein mineralischen Nährböden. Richter (Kiel).

Bernstein, A., and Morton, H. E., A new thermophilic Actinomyces. (Journ. of Bact. Vol. 27. 1934. p. 625—628.)

Im Laufe von bakteriologischen Untersuchungen an Schmelzkäse wurde von Bernstein häufiger ein thermophiler Aktinomycet beobachtet, der durch seine hohe Hitzeresistenz bemerkenswert schien. Nach den in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Untersuchungen ist der Organismus mit keiner der bekannten Arten aus der Gattung Actinomyces identisch, er wird daher als Act. casei nov. spec. bezeichnet. Ausgezeichnet ist er besonders durch fehlende Nitratreduktion sowie durch sein Gelatine-Verflüssigungsvermögen. Stärke wird nicht hydrolisiert. Grenztemperaturen für das Wachstum sind 40—60° C. Richter (Kiel).

Aref, H., and Cruess, W. V., An Investigation on the thermal death point of Saccharomyces ellipsoideus. (Journ. of Bact. Vol. 27. 1934. p. 443—452.)

Die Versuche wurden mit einem Stamm von Saccharomyces ellipsoideus von Weintrauben durchgeführt, teilweise in Traubenmost, teilweise in Phosphatpufferlösung. Es ergab sich, daß die Resistenz im pH-Gebiet 3,8—4,0 am größten ist, doch sind die Unterschiede gegenüber anderen Reaktionsbereichen nur verhältnismäßig gering. Durch N_2 und CO_2 wird bei einem Druck von 5 bis 25 engl. Pfund pro Quadratzoll eine deutliche Resistenzverminderung bewirkt, die bei N_2 etwas ausgeprägter war als bei CO_2. Als ausreichende Pasteurisierungstemperatur wird von den Verff. eine Temperatur von 54,5—55° C angegeben, falls es sich um die Pasteurisierung von Fruchtsäften handelt. Richter (Kiel).

Fabian, F. W., and McCullough, N. B., Dissociation in Yeasts. (Journ. of Bact. Vol. 27. 1934. p. 583—623.)

Die Untersuchungen wurden an folgenden Hefearten durchgeführt: Saccharomyces cerevisiae, Rasse Frohberg und Rasse Saaz, Saccharomyces ellipsoideus, Willia anomala und Zygosaccharomyces mandshuricus. Als Ausgangskulturen dienten Einzell-Kulturen, die von der S-Form angelegt waren. Für die Spaltungsversuche wurden die Kulturen in LiCl-Nährboden, Brillantgrün-Nährboden und in Nährlösungen mit erhöhtem Alkoholgehalt weitergezüchtet bzw. gealtert, daneben kamen verschiedene Temperaturen als Züchtungstemperaturen zur Anwendung. Bei allen Stämmen gelang es Verff., Spaltung in drei verschiedene morphologischen Typen zu erreichen, die entsprechend den für Bakterien üblichen Bezeichnungen als S-, R- und G-Formen bezeichnet werden; bei einzelnen Stämmen konnte neben diesen Formen noch eine sog. T-Form beobachtet werden. Die erzielten Spaltformen konnten durch längere Fortzüchtung unter günstigen Bedingungen wieder in die Ausgangsform zurückverwandelt werden. Als S-Form wird von Verff. die normale, glänzende, glattrandige Form bezeichnet, die R-Form unterscheidet sich von ihr durch stumpfe Kolonien, deren Rand bei schwacher Vergrößerung nicht geschlossen ist, sondern an Schimmelmyzel erinnert. Die Zellen der R-Form sind im allgemeinen länglicher. Die G-Form ist bakterienähnlich, ihre Größe beträgt nur etwa 1—2 μ, sie wächst zuerst schlecht auf den üblichen Nährböden, bildet aber nach Gewöhnung stumpfe, ausgebreitete, dünne Kolonien, die die Kolonien der beiden anderen Formen häufig in ihrer Flächenausdehnung übertreffen. Physiologisch unterscheidet sich die G-Form von den beiden physiologisch gleichen R- und S-Formen dadurch, daß bei ihr an Stelle der normalen alkoholischen Gärung eine Säuregärung

getreten ist. Die T-Form bildete vereinzelt die Ausgangsform für die G-Form, ihre Zellen sind durch besonders starke Lichtbrechung ausgezeichnet, eine Kultur dieser Formen gelang nicht, vielmehr gingen sie sofort in die G-Form über. Verff. glauben, daß manche Betriebsstörungen in Gärungsbetrieben, die bisher auf Infektionen zurückgeführt werden, auf eine Aufspaltung in G-Formen zurückzuführen sind. Richter (Kiel).

Yamagata, S., Über die elementare Zusammensetzung des Schimmelpilzkörpers. (Acta Phytochimica. Vol. 8. 1934. No. 1. p. 107—116.)

Für die späteren Untersuchungen des Energieumsatzes analysierte Verf. eine Reihe von Schimmelpilzen: Aspergillus oryzae, Asp. niger und Asp. melleus. Diese wurden auf verschiedenen Stickstoff- und Kohlenstoffnährlösungen als Pilzdecken gezüchtet. Als C-Quelle hat Verf. Glukose, Mannit, Glyzerin, Äthylalkohol, Zuckersäure und Saccharose verwandt, als N-Quelle benutzte er NH_4Cl, KNO_3, KNO_2, NH_4NO_3. Die Ergebnisse wurden nach den üblichen Methoden gewonnen (Pregl, Dumas). Auf Grund seiner Versuche schließt Verf., daß die verschiedenen C- und N-Verbindungen auf den Gesamtkohlenstoffgehalt des Pilzkörpers keinen Einfluß haben, dagegen wohl den N-Gehalt stark verändern, je nach Art und Menge in der Kulturlösung. Bei großer N-Gabe und geringer C-Konzentration (Äthylalkohol) ist auch der N-Gehalt im Pilzkörper hoch. Im Gegensatz zu Terroine, Wurmser und Montané fand Verf., daß ein Ersatz von Ammonsulfat durch Nitrat ein Sinken des N-Gehaltes im Pilz hervorruft, unabhängig von der gleichzeitig anwesenden C-Quelle. Ferner sollen sich besonders bzgl. des N-Gehaltes Schwankungen in der Zusammensetzung des Pilzkörpers zeigen, je nach der untersuchten Art. Verf. hat dann noch gefunden, daß der H-Gehalt bei den Sporen kleiner als bei den Myzelien ist, und der Mineralstoffgehalt weitgehend von den Wachstumsbedingungen abhängt. Skallau (Berlin).

Yamagata, S., Über den Einfluß der Stickstoffquelle auf den Gaswechsel des Schimmelpilzes. Beiträge zur Physiologie der Nitratassimilation. I. (Acta Phytochim. Vol. 8. 1934. No. 1. p. 117—155.)

Verf. machte sich zur Aufgabe, dreierlei zu untersuchen: 1. Ob die Theorie von Tamiya allgemein gültig ist, 2. ob die N-Quelle den Gaswechsel der Pilzkultur beeinflußt, 3. den Wirkungsgrad der O_2-Atmungsenergie bei Zugabe von Nitrat mit dem bei Zugabe von Ammoniumsalz zu vergleichen. Er nimmt die Theorie des respiratorischen Atmungsquotienten von Tamiya — biologische Oxydoreduktion — zum Ausgangspunkt seiner Arbeit. Nach ihr ist der (RQ)-Wert eine Funktion der Atmungs- und Wachstumsgröße. Verf. schließt daraus, daß das Verhältnis Wachstumsgröße zu Atmungsgröße ein bedingender Faktor für die Größe des Atmungsquotienten ist. Für die Versuche wurden Deckenkulturen von Aspergillus oryzae verwandt. In Atmungszylindern nach Tamiya, die verschieden zusammengesetzte Nährlösungen enthielten, wurden die Pilzdecken, die vor dem Versuch 12 Std. auf Pufferlösungen mit $p_H = 5{,}6$ hungern mußten, in ein Stickstoff-Sauerstoff-Gemisch 1 : 4 gebracht und 24 Std. darin belassen. Als N-Quelle benutzte Verf. die Lösungen von NH_4Cl, KNO_3 und KNO_2; als C-Quelle Glukonsäure, Stärke, Saccharose, Mannose, Glukose, Galaktose,

Arabinose, Dioxyazeton, Mannit, Sorbit, Adonit, Erythrit, Glyzerin, Azelaïnsäure, Sebacinsäure und Äthylalkohol. Auf Grund seiner Versuchsdaten hat Verf. die Untersuchungen von Warburg und Negelein, ferner von Ruhland und Ulrich bestätigt gefunden, nämlich daß der (RQ)-Wert der Nitratkultur erheblich höher liegt als derjenige der Ammonkultur, die Werte für die Nitritkultur liegen zwischen beiden. Im Gegensatz zu Tamiya stellte er eine Nitratreduktion bei der Zugabe von Zuckeralkoholen, Glyzerin usw. fest, wenn NH_4NO_3 als N-Quelle gegeben wurde. Im übrigen findet er die Theorie von Tamiya bestätigt: Der Atmungsquotient ist größer als der Verbrennungsquotient der angewandten C-Quelle, falls dieser wiederum größer ist als der (CQ)-Wert des Pilzkörpers. Bei N-freien Kulturen hat der respiratorische Quotient dieselbe Größe wie der (RQ)-NH_4-Wert, unabhängig von der C-Quelle. Verf. berechnete den (RQ)-Wert der 3 verschieden gezüchteten Aspergilluskulturen: Ammonium-, Nitrat- und Nitritkultur als Funktion des trophischen O_2- bzw. CO_2-Koeffizienten unter Zuhilfenahme der Bruttoformel des Pilzkörpers, seines Verbrennungsquotienten und des „Molekulargewichtes". Beim Vergleich der voraus berechneten theoretischen Werte von (RQ) mit den experimentell ermittelten kam er zur Feststellung, daß beide Zahlenreihen gut übereinstimmen. Abweichungen, die bei Verwendung von Saccharose und Mannose als C-Quelle entstehen, werden durch Eintreten einer aeroben Gärung erklärt. Bei der Nitratkultur wird die Berechnung durch das Auftreten der Extrakohlensäure der Oxydoreduktion kompliziert. Durch die bilanzmäßige Betrachtung dieses Systems jedoch war es Verf. möglich, die Extra-CO_2 auch in den wachsenden Zellen quantitativ zu bestimmen und dadurch die (RQ-)Werte theoretisch voraus zu berechnen. Zum Schluß untersuchte Verf. das Verhältnis: Wachstumsgröße zu O_2-Atmungsgröße (Aufbauquotient Tamiyas). Er kommt auf Grund seiner Ergebnisse zu der Tatsache, daß die (AQ)-Werte (Aufbauquotient) der Nitratkultur ebenso groß oder kleiner sind als die der Ammoniumkultur. Der bei der gekoppelten Oxydoreduktion entstehende Nutzeffekt von 30% geht als Wärme verloren, die wachsenden Zellen der Nitratkultur müssen zusätzliche Arbeit leisten. Skallau (Berlin).

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Gutschmid, H., Über die bakteriologischen und thermischen Grundlagen für die Herstellung von Fleischkonserven bei verschiedenen Temperaturen. (Arbeiten aus dem Reichsgesundheitsamt. Bd. 67. 1934. S. 213—232.)

Die Tötungskraft des Dampfes gegenüber Sporen nimmt mit steigender Dampfwärme erheblich zu, gleichgültig, ob die Sporen geschützt (Eiweiß- oder Fetthülle) oder ungeschützt sind. Das Optimum liegt bei 134° (= 2 Atü.), bei welcher Temperatur das geschützte Testmaterial bereits in 5 Min. zugrunde geht. Höhere Dampftemperaturen bringen praktisch keinen Gewinn. Außer günstigerer Abtötungszeit ergibt die Verwendung höherer Temperaturen raschere Durchwärmungszeit: der Doseninhalt (400 ccm, Höhe der Dosen 74 mm, Durchmesser 85 mm) erreichte bei 120° in seiner Gesamtheit diese Temperatur in 70 Min., dagegen bei 134° in 60 Min. (1½ bis 2 Std. vorgekochtes Fleisch mit Brühe erzielte die Sterilisierungstemperatur 10—15 Min. früher als roh eingebüchstes. Der Zusatz von Brühe schafft wesentlich bessere Bedingungen für die Wärmeleitung im Doseninhalt.)

Die Betriebszeit, die sich aus Abtötungszeit und Durchwärmungszeit ergibt, stellt sich infolge der doppelten Zeitersparnis bei 134° nur auf 65 Min., gegenüber 90 Min. bei 120°. Außerdem verläuft der Temperaturgang in den Büchsen bei 134° gleichmäßiger als bei 120°, mithin geringere „Wärmestreuung" und erhöhte sterilisatorische Sicherheit. Von nicht zu vernachlässigender Bedeutung ist schließlich, daß sich die bei 134° sterilisierten Fleischkonserven geschmacklich den bei niedrigerer Temperatur hergestellten überlegen erwiesen. Von 53 Versuchspersonen entschied sich die Mehrzahl für die bei 134° sterilisierten Konserven. Ob sich diese Beobachtungen über bakteriologische und thermische Vorgänge bei der Herstellung von Fleischkonserven auch für anderes Konservengut nutzbringend verwenden lassen, muß besonderen Versuchen anheimgestellt werden, ebenso die Frage, inwieweit die obigen Laboratoriumserfahrungen für die Praxis verwertbar sind. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Sherman, J. M., and Stark, P., The differentiation of Streptococcus lactis from Streptococcus fecalis. (Journ. of Dairy Science. Vol. 17. 1934. p. 525—526.)

Verff. untersuchten 27 Str. lactis - Stämme aus Milch und Molkereiprodukten und 14 Vertreter der Fecalis-Gruppe, zu der Verff. auch den Str. glycerinaceus rechnen. Folgende vier Proben gestatten nach ihren Untersuchungen eine Unterscheidung des Str. lactis vom Str. fecalis: 1. Die Maximaltemperatur; keiner der lactis-Stämme konnte bei 45° C wachsen, die fecalis-Stämme gediehen jedoch bei dieser Temperatur üppig mit einem Maximum zwischen 48—52° C. 2. Die tödliche Temperatur war in steriler Magermilch für alle lactis-Stämme 65° bei 30 Min. dauernder Einwirkung, für die Fäkalstämme genügte sie jedoch nicht; auch blieben diese bei tieferen Temperaturen immer in höheren Prozentsätzen am Leben als die Milchstämme. 3. Str. fecalis ist gegenüber alkalischer Reaktion widerstandsfähiger als Str. lactis; dieser wächst nicht mehr bei pH 9,6. 4. Der Str. fecalis besitzt eine größere Salztoleranz. Er kann gut 6,5% NaCl ertragen, während der Str. lactis kaum mehr bei 5,5% gedeihen kann. Auf Grund dieser Befunde glauben Verff. im Gegensatz zu den Anschauungen von Demeter und anderen den Str. lactis und Str. fecalis als zwei verschiedene Arten auffassen zu müssen.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Wohlfeil, T., Über Enterokokken als Krankheitserreger und Saprophyten. (Archiv f. Hyg. u. Bakt. Bd. 111. 1933. S. 11—22.)

An der pathogenetischen Bedeutung der Enterokokken kann kein Zweifel mehr bestehen. Für die Manifestierung einer Enterokokkenerkrankung scheint aber wegen der geringen Virulenz eine besondere zeitliche und lokale Empfänglichkeit der befallenen Menschen unbedingt notwendig zu sein. — In Milch (Vorzugsmilch und Markenmilch) konnten in 10% der Proben echte Enterokokken gefunden werden. Wenn K. Meyer beinahe in der Hälfte aller untersuchten Milchproben Enterokokken nachwies, so hat es sich dabei mit größter Wahrscheinlichkeit um stärker sekundär (durch Kot- und Speicheltröpfchen) verunreinigte Milchproben gehandelt.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Tracy, P. H., Ramsey, R. J., and Ruehe, H. A., Certain biological factors related to tallowiness in milk and cream.

(Agr. Exp. Sta. of Urbana. Bull. 389. 1933. Abstr. The Milk Dealer. Vol. 23. 1934. 38—39.)

Die bei Betriebsbeginn durch die Molkereiapparate laufende Milch zeigte mehr Tendenz zum Fehler „Talgigkeit“ als die nachfolgende und zwar wegen Abspülung der während Betriebsruhe gebildeten Metalloxyde. Solche Milch war bei den Versuchen der Verff. während der Wintermonate bereits nach 24 Std. talgig, wenn bei 4,4° C aufbewahrt; wurde sie aber zuerst einige Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen und dann erst gekühlt, trat der Fehler nicht oder in nur sehr geringfügigem Maße auf. Absichtlich mit Kupfersalz versetzte Milch verhielt sich ähnlich. Im Winter war die Anfälligkeit der Milch für diesen Fehler eine viel größere als im Sommer. Vermutlich spielt hierbei die größere biologische Aktivität während der wärmeren Jahreszeit eine bedeutende Rolle. Wurde Milch vor Erhitzung auf 61,1° C in zwei Hälften geteilt und die eine vorher 3 Std. lang bei 4,4° C, die andere bei 26,6° C aufbewahrt, so zeigte die letztere eine wesentliche Verminderung des ungünstigen Metalleinflusses. Wurden Milchen verschiedener Herkunft mit gleichen Mengen Kupfersalz versetzt, war das Auftreten der Talgigkeit unterschiedlich. — Wurde Milch ohne Druck durch die Homogenisiermaschine getrieben, trat der Fehler wie üblich auf, nicht jedoch, wenn Druck angewendet wurde. Vermutlich spielt die hierdurch geänderte physikalische Konstitution der Milch eine entscheidendere Rolle in der allgemeinen Beeinflussung des Geschmacks als eine evtl. doch aufgetretene Oxydation. — Eine praktische Anwendung konnte beim Buttern von Rahm gemacht werden, der mehrere Tage bei Zimmertemperatur mit Kupferionen „infiziert“ worden war, im Vergleich zu einem Rahm, der ebenfalls infiziert war, aber ohne längere Aufbewahrung gleich gebuttert wurde. Die aus diesem Rahm hergestellte Butter fiel in der Qualität gegenüber der ersteren ab. — Die wirksamen Faktoren wurden auch an Hand der Bestimmung des Redoxpotentials untersucht. Das Kupfer erhöht das Potential und schafft somit günstigere Oxydationsbedingungen, während die in Milch wachsenden Bakterien das Redoxpotential senken.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Mikrobiologie des Düngers, Bodens, Wassers und Abwassers.

Perotti, R., e Verona, O., Prime note batteriologiche sui terreni della Maremma. [Erste bakteriologische Beiträge über die Böden der Maremma.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 1. Nr. 1. 1926. 20 p., 1 Karte, 1 Taf.)

Die aerobe Mikroflora der Böden der Gegend von Grosseto wurde quantitativ und qualitativ untersucht, wobei sich ein größerer Reichtum bei den Sumpfböden ergab, auf welche die alten Alluvialböden folgen; dagegen sind die flachen Ufer der rezenten Alluvionen des Ombrone die keimärmsten von allen. Qualitativ ist die Mikroflora recht einförmig und normal. Eine neue Art mit oligonitrophilem Verhalten, Bacterium maremmanum Per. et Ver. wird beschrieben. Morstatt (Berlin-Dahlem).

Perotti, R., e Mastalli, F., Studi microbiologici sui terreni della Bassa Maremma di Val di Cecina. [Mikrobiologische Studien über die Böden der Bassa Maremma im Tal von Cecina.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 1. Nr. 10. 1927. 42 p., 4 Taf., 1 Karte.)

Es ergab sich, daß sich die Mikroflora Cecineser Böden nach den örtlichen pedologischen Verhältnissen quantitativ in sehr engen Grenzen bewegt. Trotz der Neigung des Bodens zu saurem Charakter herrschen Bakterienformen vor Pilzen vor. Die Verbreitung der Mikroflora ist qualitativ recht einförmig. Außer der Feststellung einiger gemeiner Formen werden als neue Arten beschrieben: Micrococcus cecinensis und Bacterium miniaceum, stark ammonifizierend; Bacterium cecinense und Bacterium microhelvolum, schwach denitrifizierend. Morstatt (Berlin-Dahlem).

Verona, O., Bonaventura, G., Fenoglio, L. S., Alcuni reperti batteriologici sui terreni di Libia. [Einige bakteriologische Beobachtungen über die Böden Lybiens.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 1. Nr. 13. 1928. 12 p., 1 Taf.)

Während einer Studienreise in Lybien wurden einige Bodenproben für bakteriologische Untersuchung entnommen. Es ergab sich, daß die Böden unter natürlichen Verhältnissen arm an Keimen sind, wenn auch nicht so sehr, als man gewöhnlich annimmt. Die Anzahl nimmt mit der Kultur, deren Möglichkeit nachgewiesen wird, zu. Die Zusammensetzung der Mikroflora ist recht einförmig bei einem Vorherrschen der Schizomyzeten gegenüber den Actinomyceten und Pilzen. Beschrieben wird Bacterium libicum n. sp. Morstatt (Berlin-Dahlem).

Perotti, R., e Verona, O., Seconda nota sulla batteriologia dei terreni della Maremma Grossetana. [Zweiter Beitrag über die Bakteriologie der Böden der Maremma von Grosseto.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 1. Nr. 15. 1928. 39 p., 4 Taf.)

Im Verfolg der vorhergehenden Untersuchungen (vergl. Mem. Nr. 1) wurde der N-Stoffwechsel der Bodenbakterien im Verlaufe des Sommers untersucht. Ihre Zahl nimmt gegenüber dem Frühjahr und Winter zu und bedingt zugleich mit ihrer stärkeren Aktivität das Vorhandensein befriedigender mikrobiologischer Verhältnisse der Gegend im Gegensatz zur bisherigen Vermutung. Als neue Arten werden beschrieben: Bacterium candicans, B. stoklasianum, B. pallescens, B. Ravennae, B. Ussanii und Bacillus ammonificans.
Morstatt (Berlin-Dahlem).

Verona, O., Studi microbiologici sui terreni della Campagna Pisana. [Mikrobiologische Studien über die Böden der Campagna von Pisa.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 1. Nr. 16. 1928. 38 p., 2 Taf.)

In einigen Voruntersuchungen wurden die klimatischen Verhältnisse und die physikalisch-chemische Beschaffenheit der Böden in der Ebene von Pisa festgestellt. Die bakteriologische Untersuchung ergab an einigen Orten einen verhältnismäßigen Reichtum an Keimen, insbesondere im Sommer, und entsprechende landwirtschaftliche Eignung. Beschrieben wird eine neue Art: Bacterium pisanum. Morstatt (Berlin-Dahlem).

Verona, O., e Del Tredici, A., Ulteriori contribuzioni alla conoscenza della microbiologia dei terreni della

Bassa Val di Cecina. [Weitere Beiträge zur Kenntnis der Bodenmikrobiologie des unteren Val di Cecina.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 2. Nr. 37. 1930. 36 S., 1 Taf.)

Bei den weiteren Untersuchungen (vgl. Mem. Nr. 10) wurden u. a. zwei neue Bakterien gefunden, die als Bacterium Danielii und Bact. flavum non liquefaciens beschrieben werden.

Morstatt (Berlin-Dahlem).

Horwood, M. P., and **Heifetz, A.,** A comparative study of certain media used in presumptive tests for Bact. coli. (Journ. of Bacter. Vol. 28. 1934. p. 199—211.)

Für die Durchführung der Wasseruntersuchung auf Bact. coli sind eine Reihe der verschiedensten Nährböden in Verwendung. Es erschien zweckmäßig, durch eine vergleichende Untersuchung zu prüfen, welche Nährböden für diesen Zweck sich am besten eignen. Die Prüfung, die mit Wasser verschiedener Herkunft und mit Reinkulturen vorgenommen wurde, ergab, daß die besten Ergebnisse mit Milchzucker-Bouillon und Brillantgrün-Galle-Milchzucker-Lösung erhalten werden. Die Brillantgrün-Nährlösung war der Milchzucker-Bouillon etwas überlegen, da sie einen höheren Anteil vollständiger Colinachweise ergab, doch glauben Verff., daß durch Änderung der Bebrütungszeit und der Pufferung für die Milchzucker-Bouillon gleich gute Ergebnisse erzielt werden können. Richter (Kiel).

Mikrobiologie von Holz usw.

Stulz, S., Verfahren zur Gewinnung verspinnbarer Fasern aus faserführenden Pflanzen. (D.R.P. Nr. 573458, vom 1. 4. 1933.)

Bei den natürlichen Rottungsverfahren kommen auch Mikroben auf, die eine teilweise Zerstörung der Faser selbst bewirken. Zur Vermeidung dessen wird im vorliegenden Verfahren die Naturrotte ersetzt durch eine Rottung mit Reinkulturen pektinlösender Bakterien und durch eine Nachbehandlung mit ammoniakalischer Seifenlösung unter Zusatz von Reduktionsmitteln. Die zur Rottung erforderlichen Bakterien werden wie folgt gewonnen: Man läßt Pflanzenteile, wie einheimische Früchte, Palmfrüchte oder deren Samen, andere fleischige Pflanzenorgane u. dgl. in Wasser liegen und kultiviert die daraus isolierten Pektinvergärer auf Nähragar, das mit einer Abkochung von Steinnußabfällen, Tragant u. dgl. versetzt ist. Diese Stoffe enthalten in ihrer Interzellularsubstanz besonders leicht abbaufähige, für pektinvergärende Bakterien vorzüglich geeignete Stoffe.

Limbach (Leipzig).

Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz im allgemeinen.

Appel, O., Vitality and vitality determination in potatoes. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 437.)

Die Beurteilung des Pflanzwertes von Kartoffelproben war bisher nicht möglich, da sich gesunde, „vitale", und kranke, „abgebaute", Kartoffelknollen morphologisch in der Regel in nichts voneinander unterscheiden. Verf. berichtet über die auf den Nachweis physiologischer Unterschiede gerichteten Bemühungen der letzten Jahre. Er beschreibt zunächst die Methode von Bechhold und Erbe, die darin besteht, daß ein Stück Kupferblech in die Knolle getrieben wird. Bei der Vitalknolle zeigt sich

nach wenigen Tagen bei entsprechender Behandlung eine von dem Kupfer ausgehende Braun- oder Graufärbung des Fleisches, während bei der Abbauknolle die Verfärbung unterbleibt. Die Ausdehnung der Verfärbung im Fleisch gibt ein Maß für den Grad des Abbaues. Die Nachprüfung hat leider gezeigt, daß das Zustandekommen oder Ausbleiben der Verfärbung noch von anderen unkontrollierbaren Faktoren abhängig ist, so daß das Verfahren z. Z. nicht als brauchbar bezeichnet werden kann. Als brauchbar hat sich hingegen das von Wartenberg und Hey angewandte potentiometrische Verfahren erwiesen. Es wird dabei das elektrometrische Potential gemessen, das an einer Platinelektrode entsteht, die in den Schabebrei der zu prüfenden Kartoffelknolle taucht. Als Bezugsgröße bei der Messung dient das konstante Potential einer Kalomelelektrode, mit der die Kartoffelbreielektrode in Doppel-Halbelementschaltung verbunden wird. Wartenberg und Hey fanden, daß sich die Schabebreie abbaukranker und vitalerKnollen dadurch voneinander unterscheiden, daß die ersteren in der Regel ein gegenüber der Kalomelelektrode stärker negatives Potential erreichen als die letzteren. Den festgestellten Potentialunterschieden dürften Differenzen in den Reduktions- und Oxydationskräften der Schabebreie entsprechen. Für die Beurteilung einer Herkunftsprobe sind 100—120 Knollen erforderlich. Bei stärker abgebauten Proben genügt es, 30 Knollen zu messen.

Köhler (Berlin-Dahlem).

Sanford, G. B., Some soil microbiological aspects of plant pathology. (Scient. Agriculture. Vol. 13. 1933. p. 638—641.)

Verf. weist kurz auf eine Reihe noch zu klärender Fragen hin, die sich für die Phytopathologie aus der Beobachtung über das wechselnde Auftreten verschiedener, durch boden-bewohnende Parasiten verursachter Krankheiten ergeben. Über die hierfür maßgebenden Bedingungen wissen wir in vielen Fällen bisher sehr wenig. Als Beispiele werden angeführt die Fußkrankheiten des Getreides, der Schorf und die Rhizoctonia-Krankheit der Kartoffel. Die Vorgänge, die in einem Fall zu einem Überhandnehmen der Krankheit, im anderen zu ihrem fast völligen Erlöschen führen, sind uns meist noch völlig unbekannt. Braun (Berlin-Dahlem).

Perotti, R., Patologia da concimazioni "ad alta dose" particolarmento di nitrato. [Pathologie hoher Düngergaben, insbesondere von Nitraten.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 1. Nr. 8. 1927. 21 p.)

Durch Gefäßversuche wurde eine theoretische optimale Konzentration von Kaliumnitratlösung für Weizen, Mais und Luzerne ermittelt. Diese verursacht aber unter praktischen Verhältnissen erhebliche physiologische Störungen der Pflanzen und erhöht die Anfälligkeit für pflanzliche und tierische Parasiten; auch werden die Kosten durch die Ertragssteigerung bei weitem nicht ausgeglichen. Morstatt (Berlin-Dahlem).

Perotti, R., e Adler, S., Sull' impiego del carbone e di alcuni suoi preparati negli speciali riguardi fitopatologici. [Über die Anwendung von Kohle und einigen Präparaten daraus, insbesondere in phytopathologischer Hinsicht.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 1. Nr. 9. 1927. 49 p., 5 Abb.)

Bei Untersuchung der Wirkung einiger Handelspräparate aus Holzkohle auf die Pflanzen ergab sich, daß diesen Substanzen entgegen den vorliegenden Behauptungen keine Desinfektionswirkung auf Bakterien und Pilze zukommt, sondern daß sie deren Entwicklung und die hauptsächlichsten mikrobiochemischen Wirkungen des Bodens mehr oder weniger begünstigen. Die Wirkung der reinen Kohle auf die Vegetation von Algen und Phanerogamen (Leguminosen und Cerealien) war im allgemeinen derjenigen der Handelspräparate überlegen; sie erklärt sich mit der Absorbtion flüssiger oder im Boden gelöster Stoffe. In phytopathologischer Hinsicht haben die untersuchten Kohlepräparate kein Interesse; weitere Untersuchungen darüber sind in Mem. 23, 1928 beschrieben. Morstatt (Berlin-Dahlem).

Perotti, R., Note fitopatologiche per gli anni 1925—1927. [Phytopathologische Angaben zu den Jahren 1925—1927.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 1. Nr. 12. 1927. 18 p., 3 Abb.)

Das Auftreten von Pflanzenkrankheiten in den Provinzen Pisa und Livorno wird an Beispielen erläutert und mit dem Witterungsverlauf dieser Jahre verglichen. Auf die Tätigkeit der Kgl. Beobachtungsstelle für Pflanzenkrankheiten beim Höheren Landwirtschaftsinstitut in Pisa seit 1926 wird hingewiesen und der Stand der Versuchstätigkeit und der technischen Einrichtungen der Laboratorien beschrieben.

Morstatt (Berlin-Dahlem).

Perotti, R., Note fitopatologiche per gli anni 1927—1929 [Phytopathologische Bemerkungen zu den Jahren 1927—1929.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Instit. sup. Agar., Pisa. Vol. 2. Nr. 29. 1930. 13 p.)

Wie im vorhergehenden Bericht (Mem. Nr. 12) werden die Witterungsverhältnisse der Berichtsjahre in den Provinzen Pisa, Livorno und Grosseto kurz zusammengefaßt und eine Anzahl von aufgetretenen Pflanzenkrankheiten erwähnt. Den Schluß bilden Zahlen über die Tätigkeit des phytopathologischen Dienstes und Angaben über den Ausbau der Einrichtungen der Laboratorien. Morstatt (Berlin-Dahlem).

Verona, O., Le basse temperature dei mesi di gennaio-febraio 1929 in relazione al determinismo di alcuni fenomeni biologici. [Die niederen Temperaturen im Januar und Februar 1929 und einige durch sie bedingte biologische Erscheinungen.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 2. Nr. 32. 1929.)

Nach Angabe der außergewöhnlichen Kältegrade in den ersten Monaten des Jahres 1929 werden die an einer großen Anzahl von Pflanzen verursachten Schäden geschildert. Bei dieser Gelegenheit wurden Beobachtungen über die Entstehung von Frostschäden insbesondere durch niedere Bodentemperaturen, die auch die Mikroflora des Bodens merklich zu schädigen schienen, angestellt. Morstatt (Berlin-Dahlem).

Böttcher, Bienenzucht und Hederichbekämpfung. (Verhandl. Deut. Ges. ang. Ent. Mitgliedervers. 1933. 1934. S. 113—115.)

Versuche im Käfig und im Freiland ergaben, daß die Anwendung der

kupferhaltigen Präparate Raphanit, Obranit und Hedrinol zur Hederichbekämpfung keine Gefahr für die Bienen mit sich bringt, während arsenhaltige Mittel wie Meritol, Uraniagrün, Nosprasit 0 erwiesenermaßen in dieser Hinsicht schädlich sind. K. Friederichs.

Trappmann, W. und Nitsche, G., Methoden zur Prüfung von Pflanzenschutzmitteln. VII. Eine einfache Dosierungsvorrichtung für Spritzmittel in Laboratoriumsversuchen. (Nachrichtenblatt f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 14. 1934. S. 51—52.)

Verff. beschreiben einen Dosierungsapparat für Spritzmittel, den sie aus einer Laboratoriumswaage hergestellt haben, indem sie eine Waageschale nach außen verlagerten. Als Wägefläche zum Auflegen der zu bespritzenden Blätter wählten sie eine durch Holzrahmen gestützte Zelluloidplatte. Der übrige Teil der Waage wird durch eine Blechplatte vor Verunreinigung durch die Spritzflüssigkeit geschützt. Die Vorrichtung ermöglicht die genaue Dosierung von Spritzflüssigkeitsmengen je Flächeneinheit nur bei Blättern, die der Zelluloidplatte dicht anliegen und sich nicht überdecken. Goffart (Kitzeberg b. Kiel).

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und filtrierbare Vira.

Singh, U. B., Studies on Cercospora indica, n. sp. parasitic on Cajanus indicus Spreng. (Indian. Journ. of Agric. Sc. Vol. 4, 2. 1934. p. 343—360.)

Verf. konnte von an Blattflecken erkrankten Cajanus indicus-Pflanzen 2 Stämme einer neuen Cercospora, die in Indien häufig auftritt, isolieren. Er nennt sie Cercospora indica. Die beiden Stämme unterscheiden sich besonders durch ihr Verhalten gegenüber künstlichen Nährsubstraten. Wechsel von Hell und Dunkel, sowie hohe relative Luftfeuchtigkeit (47—100%) sind für das Wachstum dieses Pilzes von günstigem Einfluß. Die Kardinalpunkte für das Wachstum liegen bei den Temperaturen 5,5, 27,5 und 37,5° C. Von Spezialnährböden hat sich am besten Coons Agar mit Maltose geeignet, während Asparagin-, Magnesiumsulfat-Kalium- und Phosphorsäurezusätze weniger vorteilhaft waren. Für die Sporenbildung liegen die optimalen Temperaturen zwischen 20 und 25° C, ebenso ist die Länge und Septierung der Sporen bei diesen Temperaturen am größten. C. indica verändert das Substrat nach der sauren Seite und verträgt eine p_H-Spanne von p_H 2,9—7,1, wobei der optimale p_H-Wert bei 6,7 liegt. Künstliche Infektion gelang nur mit Hilfe von Sporen. Die besten Resultate gaben auch hier Temperaturen von 20—25° C.

Bärner (Berlin-Dahlem).

Dastur, J. F., Cotton anthracnose in the Central Provinces. (Indian Journ. of Agric. Sc. Vol. 4, 1. 1934. S. 100—120.)

Im Oktober 1931 trat in Indien an Baumwollsamen und -sämlingen, begünstigt durch die hohe Luftfeuchtigkeit, epidemisch eine Anthraknose auf. Die Krankheit ist nicht identisch mit der bekannten Anthraknose, die durch Glomerella gossypii (Southw.) Edg. hervorgerufen wird. Die Hyphen wurden innerhalb der Samenschale gefunden, wohin sie durch den Funiculus einzudringen vermögen. Befallene Samen besitzen geringe Keimfähigkeit und die aus Samen gezogenen Pflanzen können durch den Pilz abgetötet werden. Auf Grund seiner Untersuchungen bezeichnet Verf.

vorläufig den Pilz mit Colletotrichum indicum Dast. Zur Bekämpfung werden Trennung des gesunden und kranken Saatgutes und Behandeln der Samen mit Uspulun, Kupferkarbonat usw. vorgeschlagen.

Bärner (Berlin-Dahlem).

Jacot, A. P., Acarina as possible vectors of the dutch elm disease. (Journ. econom. Entom. Vol. 27 4. 1934 8. p. 858—859.)

Es sind von der Ulmenkrankheit befallene Ulmen gefunden worden, die der als Überträger der Krankheit geltende Borkenkäfer Scolytus multistriatus nicht angegriffen hatte. Es mag neben diesem Käfer andere Überträger geben, etwa die Milben, die sich in ihrem Wanderstadium an Insekten anheften und so von diesen, etwa dem Borkenkäfer, zu anderen Orten befördert werden; man hat sie an diesem gefunden. Sie kommen häufig in den Coremien des Erregers des Ulmensterbens, Ceratostomella ulmi, vor. Mehrere andere Milbenarten, die man an Ulmen antrifft, kommen aus verschiedenen Gründen als Überträger weniger in Frage.

K. Friederichs.

Perotti, R., Dermatosi, micosi e suberosi dei frutti di Susino. [Dermatose, Mykose und Suberose von Pflaumenfrüchten.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 2. Nr. 27. 1928. 8 p., 2 Taf.)

Aus Anlaß des Vorkommens einer „Dermatose" im Ausfuhrhandel werden verschiedene Formen von Krankheiten der Oberhaut von Pflaumen, die in der Umgebung von Pisa vorkommen, beschrieben. Bei der als Mykose bezeichneten Krankheit handelt es sich um Bildung stark eingesunkener, zu Beginn der Fruchtfärbung entstehender Flecke, wobei in den Anfangsstadien ein Mucor in den Geweben gefunden wurde. Der Befall ist an bestimmte Sorten gebunden und ist wenig von äußeren Einflüssen, z. B. Regen, abhängig. Unter der Bezeichnung „dermatosi" kommen auch Flecke vor, die als Sonnenbrandflecke („macchia di sole") durch Linsenwirkung von Wassertropfen oder durch Reibung entstehen. Andere, die besser als „suberosi", Korkbildung, bezeichnet werden, sind durch plötzliche Temperaturwechsel verursachte vernarbte Beschädigungen.

Morstatt (Berlin-Dahlem).

Verona, O., e **Bagnoli, E.,** Aspergillosi delle Cariossidi di Mais. [Aspergillusbefall der Maiskörner.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 2. Nr. 42. 1931. 17 p., 3 Abb., 1 Farbtaf.)

An frisch eingelagertem Mais wurde ein stärkers Auftreten einer schwärzlichen, stäubenden Pilzvegetation beobachtet, die als Aspergillus niger v. Tieghem bestimmt wurde. Nach Bemerkungen über andere am Mais beobachtete Schimmelpilze und ihre Beziehungen zur Pellagra werden Kultur- und Infektionsversuche mit dem Pilz beschrieben, die zur Feststellung der Bedingungen des Befalles angestellt wurden und ergaben, daß weniger die Ernährungsverhältnisse, als vielmehr Feuchtigkeit und Temperatur den Befall begünstigen. Morstatt (Berlin-Dahlem).

Verona, O., Marciume di frutti di pomodoro dovuto a „Rhizopus nigricans" Ehr. [Rh. nigricans als Erreger einer Fruchtfäule der Tomate.] (Mem. Lab.

patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 2. Nr. 48. 1930. 7 p., 1 Farbtaf.)

An Tomaten wurde ein teilweiser Befall mit dichtem, schwärzlichem Schimmel von Rh. nigricans beobachtet, der zu rascher Fäule führte und auch auf benachbarte Früchte überging. Als Gegenmaßnahmen werden das Abernten vor völliger Reife und Vernichtung der befallenen Tomaten empfohlen. Die Kultur des Pilzes ergab, daß sein Wachstum durch Zucker begünstigt und durch Säuren gehemmt wird.

Morstatt (Berlin-Dahlem).

Perotti, R., e **Bonaventura, G.,** Attacchi di Botrytis cinerea, Pers., su infruttescenzi di Ricino. [Befall der Fruchtstände von Rizinus durch B. cinerea.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 1. Nr. 5. 1927. 10 p.)

Als neu an Rizinus wird ein bemerkenswerter parasitärer Befall der Früchte durch Botrytis cinerea beschrieben, der unter besonderen Umweltverhältnissen eintritt. Aus diesem Anlaß wurde die Wirksamkeit einer angesäuerten Kupfersulfatlösung (1% H_2SO_4 + 1% $CuSO_4$) gegen die resistenten Konidien des Pilzes geprüft, deren praktische Verwendung möglich wäre in Fällen, in denen das Laub der befallenen Pflanzen genügend widerstandsfähig ist. Morstatt (Berlin-Dahlem).

Sallans, B. J., Methods of inoculation of wheat with Helminthosporium sativum P. K. and B. (Scient. Agriculture. Vol. 13. 1933. p. 515—527.)

Um gute Infektionsergebnisse mit Helminthosporium sativum an jungen Pflanzen zu erzielen, hat Verf. Untersuchungen mit verschiedenen Verfahren durchgeführt. Am besten bewährte sich die Verwendung einer Sporensuspension, mit der die Samen behandelt werden. Anschließend werden sie 18—24 Std. bei 24° C aufbewahrt. Die Aussaat soll in abgetrocknetem Zustand erfolgen. Bei der Verwendung von Kulturen auf festen Nährböden (Vim = fein gemahlene Haferspelzen), die bei einem Alter von 2 Wochen auch gute Ergebnisse zeitigen, erwies sich die gleichartige Behandlung der Kontrollen als schwierig. In nicht sterilisiertem Boden führte das Einbringen sterilen Nährbodens zu starkem Befall der Kontrollpflanzen, da die im Boden vorhandenen Mikroorganismen sich auf dem Nährmedium üppig entwickelten. Braun (Berlin-Dahlem).

Stakman, E. C., Levine, M. N., Cotter, R. U., and **Hines, L.,** Relation of barberry to the origin and persistence of physiologic forms of Puccinia graminis. (Journ. Agric. Research. Vol. 48. 1934. p. 953.)

Ein umfassender Bericht über den Nachweis der verschiedenen biologischen Rassen des Schwarzrostpilzes (Puccinia graminis) auf ihrem Äzidienwirt (Berberis vulgaris) einerseits und ihren Uredowirten anderseits, und über ihre Verbreitung in den nördlichen Vereinigten Staaten. Von den im Laufe der letzten 13 Jahre gesammelten 675 Äzidienproben konnten mit 281 an Uredowirten Infektionen erhalten werden. Davon gehörten 34,2% zur Varietät tritici, 63,7% zur Varietät secalis und nur 2,1% zur Varietät avenae. Was die Varietät Puccinia graminis tritici anbetrifft, so betrug die Zahl der vorgefundenen biologischen Rassen 26. Am häufigsten waren die Rassen Nr. 36 und 38. 4 Rassen, nämlich Nr. 62, 102, 104 und 105, konnten nur von der Berberitze, nicht jedoch von

einem der Uredowirte isoliert werden. 71 in der Nähe von rostbefallenen Berberitzen gesammelte Uredoproben umfaßten 19 verschiedene biologische Rassen. Analoge Feststellungen an kleinerem Material wurden bei Puccinia graminis secalis und P. gr. avenae gemacht.

Die Ergebnisse, deren Einzelheiten im Original einzusehen sind, lehren jedenfalls, daß die Berberitze in der Natur nicht nur das Fortbestehen des Getreideschwarzrostes, sondern auch die Neubildung von biologischen Rassen durch die auf ihr sich abspielenden Bastardierungen ermöglicht.

E. Köhler (Berlin-Dahlem).

Neatby, K. W., The type of infection of wheat seedlings by Puccinia graminis tritici in the greenhouse house as a measure of the percentage infection in the field. (Scient. Agriculture. Vol. 13. 1933. 625—635.)

Für die Immunitätszüchtung ist die frühzeitige Eliminierung anfälliger Rassen von großer Bedeutung. Wiederholt ist über Widersprüche im Verhalten von Sorten im Gewächshaus und im Freiland gegenüber Puccinia graminis tritici berichtet worden. Verf. hat daraufhin F_2- und F_3-Pflanzen der Kreuzungen Marquillo × Reward, Garnet × Marquillo und Garnet × Double Cross untersucht. In der Mehrzahl der Fälle hat er die Form 21 des Erregers benutzt. Er hat gefunden, daß zwischen dem Verhalten im Gewächshaus und im Freiland weitgehende Übereinstimmung besteht und daß die Vererbung des Freilandverhaltens offenbar durch die gleichen Faktoren wie diejenige des Laboratoriumsverhaltens bestimmt wird. Demnach besteht kein Anzeichen dafür, daß Marquillo und Double Cross bei zunehmender Reife zunehmende Resistenz aufweisen.

Braun (Berlin-Dahlem).

Sanford, G. B., and Broadfoot, W. C., The relative susceptibility of cultivated and native hosts in Alberta to stripe rust. (Scient. Agriculture. Vol. 13. 1933. p. 714—721.)

Nachdem Verff. bereits früher auf die Bedeutung von Hordeum jubatum für die Verbreitung von Puccinia glumarum hingewiesen haben, haben sie ihre diesbezüglichen Untersuchungen auf andere Wild- wie auch auf Kulturpflanzenarten ausgedehnt. Die in Alberta jetzt meist gebauten Weizensorten, insbesondere Marquis, Reward und Garnet, erwiesen sich als hoch resistent. Von den wilden Wirtspflanzen spielt H. jubatum die wichtigste Rolle. Dann folgen Agropyron dasystachyum und A. Griffithsii. Als neue Wirtspflanzen werden angeführt A. repens, A. elongatum, A. dagnae, A. pungens. Weiter wird das Verhalten von A. Richardsoni, A. Smithii, A. tenerum und Bromus ciliatus besprochen.

Braun (Berlin-Dahlem).

Luthra, J. Ch., and Sattar, A., Some experiments on the control of loose smut, Ustilago tritici (Pers.) Jens., of wheat. (Indian Journ. of Agric. Sc. Vol. 4, 1. 1934. S. 177—198.)

Ustilago tritici ist besonders in Punjab häufig anzutreffen und kann einen Ernteausfall von mehr als 20% bewirken. Verschiedene für Indien äußerst billige Bekämpfungsmethoden durch Behandeln des Saatgutes mit erwärmtem Wasser wurden ausprobiert. Die Erwärmung geschieht unter Ausnutzung der Sonnenhitze in besonderen Apparaturen. Wassertemperaturen bis ca. 55° C kamen zur Anwendung.

Bärner (Berlin-Dahlem).

Hanna, W. F., and Popp, W., The overwintering of bunt spores in Western Canada. (Scient. Agriculture. Vol. 13. 1933. p. 636—637.)

An 6 verschiedenen Versuchsstationen ist die Keimfähigkeit von Sporen von Tilletia tritici geprüft worden, die Ähren des Mindum-Weizens entstammen, welche über Winter auf der Bodenoberfläche im Freiland gelegen hatten. Im allgemeinen wurde reichliche Keimung festgestellt. Waren die Ähren dagegen etwa 15 cm tief eingegraben, so war die Keimfähigkeit der diesen entnommenen Sporen fast erloschen.

Braun (Berlin-Dahlem).

Verona, O., Urocystis occulta (Wallr.) su frumento. [U. occulta auf Weizen.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 1. Nr. 7. 1927. 5 p., 1 Abb.)

Auf die Beschreibung eines Befalles von Weizen in Mittelitalien durch Urocystis occulta folgen Erörterungen über die systematischen Beziehungen der verschiedenen Urocystisarten, von denen auf Gramineen eine Spezies angenommen wird, bei der aber physiologische Rassen unterschieden werden können. Morstatt (Berlin-Dahlem).

Verona, O., Qualche osservazione colturale sul „Trichothecium roseum“ Link. [Einige Beobachtungen an Kulturen von T. roseum.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 2. Nr. 47. 1930. 7 p.)

Der Pilz verursacht eine charakteristische Bitterfäule an zahlreichen Früchten, besonders Äpfeln und Birnen. Die Versuche über seine Entwicklung bei verschiedenem Zucker- und Säuregehalt der Nährböden erklärten, wie der Befall der Früchte mit der Reife, d. h. mit der Abnahme der Säure zunimmt.

Morstatt (Berlin-Dahlem).

Verona, O., Osservazioni sul Parassitismo della „Phyllosticta camelliae“ West. [Beobachtungen über den Parasitismus von Ph. camelliae.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 1. Nr. 21. 1929. 5 p., 2 Taf.)

An einer älteren Pflanze von Camellia japonica im Garten des Institutes wurde im Frühjahr 1927 ein Befall der Blätter durch Phyllosticta camelliae beobachtet, der, wenn auch nicht ernsthaft schädlich, doch einen Schönheitsfehler der Kamelien bedeutet. Das Krankheitsbild wird mit einigen Angaben über die Befallsbedingungen beschrieben.

Morstatt (Berlin-Dahlem).

Perotti, R., e Bonaventura, G., Ricerche ed osservazioni sulla biologia ed in ispecie sul parassitismo della Tubercularia vulgaris, Tode. [Untersuchungen und Beobachtungen über die Biologie und insbesondere den Parasitismus von T. vulgaris.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 1. Nr. 2. 1926. 17 p., 6 Abb., 1 Farbtaf.)

Anläßlich der Untersuchung eines von T. vulgaris (= Nectria cinnabarina) befallenen Lindenastes werden einige morphologische und physiologische Beobachtungen über den Pilz beschrieben, wobei festgestellt wird, daß in den Konidienlagern stets ein Bacterium sp. vom Typus B. fluorescens vorhanden ist, das in ein synergetisches Verhältnis zum Pilz tritt und seine parasitäre Wirkung begünstigt. Morstatt (Berlin-Dahlem).

Perotti, R., e Verona, O., Indagini sui rapporti tra sviluppo della Fumaggine negli olivi e trattementi dachicidi. [Untersuchungen über die Beziehungen zwischen der Entwicklung des Rußtaues an Oliven und der Anwendung von Mitteln gegen die Olivenfliege.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 2. Nr. 34. 1929. 21 S., 1 Taf.)

Infolge von Klagen der Olivenbauer, die eine starke Ausbreitung der Rußtaupilze der Anwendung von melassehaltigen Arsenbrühen zuschrieben, wurden besondere Untersuchungen über den Einfluß der Arsensalze auf die rußtaubildenden Myzelien angestellt. Unter den verschiedenen beteiligten Pilzen herrscht eine der Alternaria tenuis mehr oder weniger nahestehende Form vor; häufig tritt dabei auch Cladosporium herbarum auf. Es ergab sich, daß die Arsensalze und besonders die Arsenite bei nicht zu geringer Konzentration giftig auf die Pilze wirken und daß daher für das tatsächlich beobachtete Kümmern der Ölbäume eine andere Ursache angenommen werden muß. Morstatt (Berlin-Dahlem).

Verona, O., Di alcuni casi patologici esaminati presso il R. Osservatorio Regionale di Fitopatologia di Pisa. [Einige von der Kgl. phytopathologischen Beobachtungsstation in Pisa untersuchte pathologische Fälle.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 2. Nr. 39. 1930. 15 p., 9 Abb.)

Kurz geschildert werden u. a. ein Bakterienkrebs an Zweigen und Wurzeln des Mandelbaumes, eine Bakterienfäule an Kohl, ein Krebs von Nectria ditissima an Raphiolepis japonica, ein Krebs an Robinie, Phyllosticta ceratoniae Berk. an Blättern aus Sizilien, Puccinia buxi D.C. an Buxus sempervirens, eine anscheinend bakterielle Vergilbung von Weizenblättern und Mißbildungen an Cucurbita pepo. Morstatt (Berlin-Dahlem).

Perotti, R., è Bonaventura, G., Mico-batteriosi dei frutti di Nerium Oleander L. [Eine Myko-Bakteriose der Früchte des Oleanders.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 1. Nr. 17. 1928. 5 p., 1 Abb.)

Es wird ein neuer Fall von „myko-bakterieller Synergese“ beschrieben, welche recht häufig Nekrosen und Hypertrophien an den Früchten von Oleander erzeugt und nicht mit der „rogna“ (Bakterienkrebs) identisch ist. Beteiligt sind Bacillus oleae und Alternaria tenuis, deren Zusammenwirken näher verfolgt wurde.

Morstatt (Berlin-Dahlem).

Perotti, R., e Pontecorvo, G., Ulteriori ricerche sulla micobatteriosi fiorale e dei frutti dell' oleandro. [Weitere Untersuchungen über die Myko-Bakteriose der Blüten und Früchte des Oleanders.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 1. Nr. 25. 1929. 11 p., 1 Taf.)

Die späteren Untersuchungen (vgl. Mem. Nr. 17), bei denen die Mitwirkung säurebildender Bakterien beim Zustandekommen der Krankheit bestätigt wurde, ergaben, daß außer der Alternaria tenuis auch

ein Fusarium beteiligt ist und zwar schien das letztere eine energischere pathogene Wirkung auszuüben als die Alternaria.

Morstatt (Berlin-Dahlem).

Verona, O., e Franchini, R., Il „Fusarium Martii" App. e Wr. nella Micobatteriosi dell' Oleandro. [Das Fusarium Martii bei der Mykobakteriose des Oleanders.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 2. Nr. 36. 1930. 14 S., 1 Taf.)

In Fortsetzung der früheren Studien (vgl. Mem. Nr. 2 und Nr. 25) wurde festgestellt, daß das beteiligte Fusarium zur Sect. Martiella gehört und als F. Martii, var. minus zu bezeichnen ist. Von dem Bakterium sp. wird die Morphologie und das Verhalten in Kultur (mit Abb.) beschrieben. Bei Infektionsversuchen an Oleander ergab sich die Abhängigkeit der Infektion von äußeren Umständen, insbesondere von Feuchtigkeit.

Morstatt (Berlin-Dahlem).

Perotti, R., Le Mico-batteriosi. [Die Myko-Bakteriosen.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 2. Nr. 50. 1931. 3 p.)

Im Anschluß an die vom Verf. beschriebenen (Mem. Nr. 2, 17, 25, 36) und einige andere bekannte Fälle wird der Begriff der „Myko-Bakteriose" kurz erörtert. Die Anwesenheit der Bakterien kann dabei nicht wie bisher als bloße Begleiterscheinung gedeutet werden, sondern es handelt sich um eine neue Form der Pathogenese, die zu den Mykosen und den Bakteriosen hinzukommt und in einem Zusammenwirken (Synergese) von Pilzen und Bakterien besteht. Morstatt (Berlin-Dahlem).

Verona, O., e Sbrana, G., Alcune osservazioni sulla „Scabbia" o „Schorf" dei tuberi di patata. [Einige Beobachtungen über den Schorf der Kartoffelknollen.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 2. Nr. 38. 1930. 15 p., 2 Abb.)

Nach einer Übersicht der Literatur über Nomenklatur und Erreger des Kartoffelschorfes werden Beobachtungen an aus Deutschland eingeführten Saatkartoffeln beschrieben, aus denen geschlossen wird, daß es sich nicht um einen spezifischen Erreger, sondern um verschiedene, nicht miteinander verwandte Organismen handelt. Die Bodenbeschaffenheit wirkt dabei nur indirekt mit, indem sie Entwicklung oder Virulenz der Mikroorganismen begünstigt. Zur Verhütung wird u. a. Verwendung widerstandsfähiger Sorten empfohlen. Morstatt (Berlin-Dahlem).

Perotti, R., e Verona, O., La rogna del cotogno (Pirus cydonia, L.). [Der Quittenkrebs.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 1. Nr. 3. 1927. 6 p., 1 Taf.)

Unter diesem Namen wird eine neue Krankheit der Quitte beschrieben, die in krebsartigen Wucherungen der Rinde besteht. Als Erreger wurde ein Bakterium festgestellt, von dem eine kurze Diagnose (ohne Namen) gegeben wird. Morstatt (Berlin-Dahlem).

Perotti, R., e Verona, O., Ancora sulla rogna del Cotogno. Il Bacterium Cydoniae, n. sp. [Weiteres über den Quittenkrebs.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 1. Nr. 20. 1928. 9 p.)

Der im Mem. Nr. 3 beschriebene Quittenkrebs wurde weiter untersucht. Dabei wird außer kurzen Angaben über die Bekämpfung der Erreger Bact. cydoniae als neue Art genau beschrieben und eine vollständige diagnostische Tafel davon beigegeben. Morstatt (Berlin-Dahlem).

Kunkel, L. O., Studies on acquired immunity with tobacco and aucuba mosaics. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 437.)

Verf. weist nach, daß Tabakpflanzen (Nicotiana silvestris), die mit einem abgeschwächten Stamm des Aucuba-Mosaikvirus infiziert sind, damit „immun" geworden sind gegen stärkere Stämme desselben Virus sowie gegen das gewöhnliche Tabakmosaik. Umgekehrt sind mit dem Tabakmosaik infizierte Pflanzen gegen Aucuba und gegen andere Stämme des Tabakmosaiks „immun". Eine Ausnahme machen nur die jüngsten Blätter, diese sind noch aufnahmefähig. Die „Immunität" erstreckt sich offenbar nur auf solche Teile, die bereits von dem immunisierenden Virus durchsetzt sind. Die immunisierende Wirkung wird nur gegenüber einem dem immunisierenden Virus nahe verwandten Virus beobachtet, nicht jedoch gegenüber fremden Viren (tobacco ring-spot, Gurkenmosaik). Ref. sieht seine eigenen Untersuchungen an Kartoffelmosaikviren (Phytop. Ztschr. Bd. 7. 1934. S. 1) durch vorliegende Arbeit vollauf bestätigt. Das Verhalten der Varianten des Tabakmosaikvirus (wozu auch das sog. Aucuba-Mosaik gehört) entspricht durchaus dem Verhalten der vom Ref. studierten Varianten („homologen Vira") des Ringmosaik (X-Virus) der Kartoffel. Verf. deutet auch zwei Erklärungsmöglichkeiten an: Das immunisierende Virus könnte eine Erschöpfung des Nährsubstrats herbeiführen, so daß dem zweiten Virus die Möglichkeit zur Vermehrung genommen ist, oder aber es könnten die infizierten Zellen die Bildung von spezifischen Immunstoffen veranlassen.

E. Köhler (Berlin-Dahlem).

Holmes, Fr. O., A masced strain of tobacco-mosaic virus. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 845.)

Stengelstücke von Tomaten, die zuvor mit einem starken Stamm des gewöhnlichen Tabakmosaikvirus infiziert worden waren, wurden, in Glasröhren verschlossen, 15 Tage im Wasserbad bei 34,6° C gehalten. Die Behandlung hatte die Abspaltung von Mosaikstämmen zur Folge, die keine oder fast keine Symptome auf dem türkischen Tabak mehr erkennen ließen. Ein solcher „maskierter" Stamm wurde mit dem starken Ausgangsstamm und einem mittelstarken Stamm des gleichen Virus verglichen. In vieler Hinsicht herrschte vollkommene oder doch annähernde Übereinstimmung zwischen den drei Stämmen. So war das Verhalten der Säfte bei der Feststellung der Tötungstemperatur, der Verdünnungsgrenze und der Dauerhaftigkeit beim Stehenlassen übereinstimmend. Auf Nicotiana Langsdorffii erschienen auf den eingeriebenen Blättern bei allen drei Stämmen die gleichen nekrotischen Initialflecken, die Ableitung der Stärke aus den Blättern war, wie die Jodprobe erkennen ließ, in gleicher Weise gehemmt. Die Unterschiede bestehen in der Hauptsache in folgendem: Erstens ist der maskierte Stamm noch gut befähigt, sich im Gewebe zu vermehren bei Temperaturen, die so hoch sind, daß sie die Vermehrung des starken Ausgangsstammes völlig sistieren. Zweitens dringt der schwache Stamm bedeutend langsamer in die jungen, noch wachsenden Organe vor als die stärkeren Stämme.

E. Köhler (Berlin-Dahlem).

Berkeley, G. H., and Madden, G. O., Transmission of streak and mosaic diseases of tomato through seed. Nr. II. (Scient. Agriculture. Vol. 13. 1933. p. 455—457.)

Verff. bringen weitere Beweise für die Übertragbarkeit des Tomatenmosaiks durch die Samen. Sie haben an gesunden Pflanzen mit Hilfe von zerquetschten Embryonen von kranken die Krankheit hervorgerufen. Ebenso erwuchsen aus Samen von kranken Pflanzen wiederum solche. Allerdings wird die Krankheit keineswegs durch sämtliche Samen einer kranken Pflanze übertragen. Das infektiöse Agens ist in den Samen sowohl grüner wie reifer Früchte. Zur Verhütung des Auftretens der Krankheit wird die Gewinnung der Samen von nur gesunden Pflanzen empfohlen.

Braun (Berlin-Dahlem).

White, P. R., Multiplication of the viruses of tobacco and aucuba mosaics in growing excised tomato root tips. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 1003.)

Die Kultur von Pflanzenviren war bisher nur durch Überimpfen von Pflanze zu Pflanze möglich. Das Verfahren beansprucht sehr viel Platz, und außerdem sind die Pflanzen in den Gewächshäusern leicht der Gefahr der Infektion mit anderen Viren ausgesetzt, wodurch das kultivierte Virus dann verunreinigt wird. Diese Nachteile ließen sich dadurch überwinden, daß als Virusträger an Stelle von ganzen Pflanzen isolierte Tomatenwurzeln verwendet wurden, die in einer geeigneten Nährlösung gezogen werden können. Die Wurzeln wachsen darin unbegrenzt weiter und dem Wachstum geht, wie Verf. zeigt, eine entsprechende Vermehrung des Virus im Wurzelgewebe parallel. Das Verfahren hat sich bisher bei zwei nahe verwandten Viren, dem gewöhnlichen Tabakmosaik und dem Aucubamosaik bewährt.

E. Köhler (Berlin-Dahlem).

Holmes, F. O., Inheritance of ability to localize tobacco-mosaic virus. (Phytopath. Bd. 24. 1934. p. 984.)

Wenn man unter Anwendung der Blatteinreibemethode Pflanzen von Nicotiana tabacum mit dem Virus des gewöhnlichen Tabakmosaiks beimpft, so breitet sich dieses von den Stellen des Eindringens ungehindert aus und dringt schließlich unter ständiger Vermehrung in alle Teile der Pflanze vor. Bei manchen anderen Solanaceen wird ein abweichendes Verhalten beobachtet. So dringt bei gewissen Rassen von Capsicum frutescens das Virus zwar ein und vermehrt sich zunächst im Umkreis der Eintrittsstellen, es bleibt jedoch auf diese Stellen beschränkt, wobei in der Folge diese Stellen absterben, so daß auf dem Blatt zahlreiche kleine nekrotische Flecke entstehen. Die beimpften Blätter lösen sich ferner ab und im übrigen bleibt die Pflanze bis zur Reife gesund und virusfrei. Die vom Verf. an Kreuzungen verschiedener Rassen von Capsicum frutescens vorgenommene Erbanalyse zeigt, daß das abweichende Verhalten über das „normale“ dominiert und daß seine Vererbung anscheinend dem einfachen monohybriden Mendelschema folgt. An einer Reihe von Kreuzungen verschiedener Nicotiana-Arten konnten diese Erfahrungen im Prinzip bestätigt werden.

E. Köhler (Berlin-Dahlem).

Rawlins, T. E., and Parker, K. G., Influence of rootstocks on the susceptibility of sweet cherry to the buckskin. (Phytopathol. Vol. 24. 1934. p. 1929.)

Verff. machten in Kalifornien die Beobachtung, daß Süßkirschen (Prunus avium) eine erhöhte Resistenz gegen die „Buckskin“ genannte Virus-

krankheit zeigten, wenn sie auf Prunus mahaleb als Unterlage wuchsen. Wenn einzelne auf dieser Unterlage stehende Bäume dennoch erkrankten, so lag das daran, daß sie selbständig Wurzeln von oberhalb der Pfropfstelle gebildet hatten. Merkwürdig war jedoch, daß die Entfernung solcher Wurzeln in drei Jahren keine Gesundung zur Folge hatte. Die Obstzüchter machen sich in der gefährdeten Gegend jetzt die Schutzwirkung der Mahalebunterlage bei allen Neupflanzungen zunutze. Um der Erscheinung auf den Grund zu kommen, infizierten Verff. künstlich (durch Okulieren) Bäume der Sorte Napoleon, die auf Mahalebunterlage standen. Im allgemeinen reagierten diese Bäume mit einer auffälligen Chlorose, die sonst für die Krankheit nicht kennzeichnend ist, nur in zwei von 10 Fällen traten typische Krankheitserscheinungen auf, und diese beschränkten sich auf den okulierten Ast selbst. Junge kranke Napoleonreiser, die auf Mahalebsämlinge gepfropft wurden, wurden chlorotisch und fingen an abzusterben. Ein Eintritt des Virus in die Mahalebunterlage scheint nicht stattgefunden zu haben.

Köhler (Berlin-Dahlem).

Tierische Schädlinge.

Newton, W., and Bosher, J. E., The tomato root-knot disease. (Scient. Agriculture. Vol. 13. 1933. S. 594—595.)

Da sich in vielen Fällen eine Dampfsterilisation des Bodens in Gewächshäusern zur Bekämpfung der durch Heterodera radicicola (Geef) Muller hervorgerufenen Tomatenerkrankung nicht durchführen läßt, haben Verf. Versuche mit Formalinbehandlung durchgeführt. Eine 1 proz. Formalinlösung (= 0,4% Formaldehyd) erwies sich als wirksam bei anscheinend gleichzeitig günstigem Einfluß auf die Entwicklung der Pflanzen. Konzentrationen von 0,5 und 0,25% reichten nicht aus. Erforderlich sind etwa 280 l Lösung auf 1 cbm Boden.

Braun (Berlin-Dahlem).

Behlen, W., Die Erbsenlaus (Macrosiphon onobrychis B. d. F.), ein äußerst gefährlicher Luzerneschädling. (Nachrichtenblatt f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 14. 1934. S. 48—51.)

Verf. berichtet über ein Auftreten der Erbsenlaus, die in Nieder- und Oberschlesien im Mai 1933 auf einzelnen Luzernefeldern in verheerendem Maße sich zeigte. Die Pflanzen wurden in wenigen Tagen bis zum Verdorren ausgesogen. Die Ursache für das plötzliche Massenauftreten dürfte in der für Blattläuse günstigen Witterung der Jahre 1932 und 1933 liegen. Hinzu kommt noch die geschützte Lage der befallenen Felder. Natürliche Feinde, besonders Marienkäfer, konnten der Massenvermehrung keinen Abbruch tun. Am zweckmäßigsten wirkte sich sofortiges Abmähen der befallenen Schläge aus, da die Blattläuse in diesem Falle wegen Nahrungsmangel verhungern. Es besteht dann auch noch die Möglichkeit, die Anlage für eine spätere Nutzung zu retten. Eine unmittelbare Bekämpfung scheint nur bei den an den Stoppeln sitzenden ungeschützten Läusen möglich zu sein. Gewisse Erfolge konnten auf mechanischem Wege erreicht werden, indem sich auf mit Lehmbrei bestrichenen und über die Stoppeln gezogenen Brettern in kurzer Zeit so viel Läuse ansammelten, daß sie, abgekehrt, eimerweise vernichtet werden konnten. Vorversuche mit Blattlaus-Bekämpfungsmitteln in flüssiger Form brachten kein befriedigendes Ergebnis.

Goffart (Kitzeberg b. Kiel).

Speyer, W., Wanzen (Heteroptera) an Obstbäumen. II. Mitt. (Ztschr. Pflanzenkrankh. Bd. 44 4. 1934. S. 122—150, 161—183, 29 Abb.)

Die Untersuchung bezog sich hauptsächlich auf die Wanzen am Apfelbaum. Das Material wurde durch regelmäßig wiederholte Klopffänge gewonnen. Es wird eine Bestimmungstabelle der am Apfelbaum gefangenen Capsidenlarven gegeben. Die Beschädigungen an Früchten und Blättern werden beschrieben und abgebildet. Im niederelbischen Obstbau sind als Raubwanzen nützlich die Gattungen Anthocoris, Lyctocoris und Triphleps, harmlos alle Arten, die erst vom Juli an als Larven oder Imagines auf den Apfelbäumen anzutreffen sind (weil die Schäden vor der Bildung des Johannistriebes verursacht werden). Verdächtig sind zunächst alle im Frühjahr auftretenden Wanzen (außer den Anthocoriden). Als wirklich schädlich erwies sich Lygus pabulinus, örtlich auch Plesiocoris rugicollis. Erstere Art wandert auf krautige Pflanzen ab und erzeugt an diesen eine zweite Generation. Daher ist die Nähe der verschiedenen, dafür in Betracht kommenden Pflanzen neben dem Mangel sorgfältiger Spritzung mit Carbolineum im Winter von Einfluß auf die Stärke des Befalls der Apfelbäume im folgenden Jahre.

K. Friederichs.

Oettingen, H. von, Zwei neue Schädlinge an Futterpflanzen. (Nachrichtenblatt f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 14. 1934. S. 65—66.)

Es werden zwei für Deutschland neue Dipterenlarven beschrieben, von denen die eine, Chortophila disseeta, früh gesäte Maiskörner ausfrißt, die andere, Lauxania aenea, in Kleestöcken gefunden worden ist. Die von Ch. disseeta befallenen Körner zeigten eine oder mehrere runde Öffnungen von knapp 1 mm Durchmesser. Die weißlichen Larven haben im erwachsenen Zustand eine Länge von 7—8 mm und ein von oben her abgeschrägtes Abdomen-Ende. Das Kopf-Ende der Larven ist leicht zugespitzt, die schwarzen Mundhaken in ihrem mittleren Drittel sind fein gezähnt. Frisch gesäter Mais wird stärker befallen als spät gesäter. Die Larven von Lauxania aenea sind schlank, hell-zitronengelb, von 4.5 mm Länge. Charakteristisch sind für sie vier fast stachelförmige Auswüchse am Abdomen-Ende. Da die Mundhaken verhältnismäßig schwach gekrümmt, breit und glattrandig sind, besteht die Möglichkeit, daß die Larven mehr an verwesendem als an frischem pflanzlichem Gewebe leben.

Goffart (Kitzeberg b. Kiel).

Meyer, E., Über eine schwere Schädigung von Runkeln durch die Capside Calocoris norwegicus Gmel. (Nachrichtenblatt f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 14. 1934. S. 57—59.)

Calocoris norwegicus Gmel. trat Anfang Mai 1933 auf einer mit Runkelrüben bestellten 1—1½ ha großen Fläche schwer schädigend auf. Beschädigt wurden vorwiegend die dem Herzen benachbarten gerade austreibenden Blätter, während ausgewachsene fast völlig unverletzt waren. Die jungen Blätter waren durch die Stiche meist völlig abgestorben, geschwärzt und vertrocknet. Infektionsversuche führten nur bei Runkeln zu Schädigungen, während Getreide so gut wie gar nicht angegriffen wurde, Kartoffeln, Saubohnen und Erbsen nur schwache, örtlich begrenzte Schwärzungen aufwiesen. Einige Beobachtungen lassen das Auftreten von 2 Gene-

rationen statt einer Generation, wie bisher angenommen wurde, als möglich erscheinen. Goffart (Kitzeberg b. Kiel).

Oekologie, biologische und chemische Bekämpfung tierischer Schädlinge.

Jancke, O., Über den Einfluß der Kalidüngung auf die Anfälligkeit der Apfelbäume gegen Blutlaus, Blattlaus und Mehltau. (Arb. Biolog. Reichsanstalt Land- u. Forstwirtsch. Bd. 20 3. 1933 4. S. 291—302.)

Es ist öfter behauptet worden, daß Kalidüngung einen hindernden Einfluß gegen Blattlausbefall habe. Versuche in Naumburg ergaben, daß bei gewissen Apfelsorten die Anfälligkeit für die Blutlaus durch Kalidüngung nicht beeinflußt wurde. Auch der Befall durch die Apfelblattlaus stand in keiner Beziehung zur Kalidüngung, und der Mehltaubefall der Versuchsbäumchen wurde durch Kali nicht verringert. K. Friederichs.

Ripper, W., Die feldmäßige Bekämpfung der Rübenblattlaus. (Neuheiten a. d. Gebiete d. Pflanzenschutzes. Jahrg. 27 3. 1934 7. S. 55—58.)

Mit der bisher üblichen Methode, befallene Rübenblätter zu beseitigen, konnte die starke Verlausung dieses Jahres nicht aufgehalten werden. Es gelang dagegen im Feldversuch, bei Anwendung von 2 proz. Schmierseifenlösung die Läuse völlig zu beseitigen, wenn der Arbeiter kniend das einzelne Rübenblatt mit der linken Hand hält und mit der rechten eine Batteriespritze in Anwendung bringt. Dies muß prophylaktisch, d. h. vor starkem Befall geschehen. Ferner wurde das amerikanische „Nikotindust"-Verfahren ausgebaut. Die Herstellung des „Nikostaubes" aus Nikotinsulfat nebst Schlemmkreide (5 : 95) oder Staubkalk, wird geschildert. Die Anwendung erfolgte mit einem Motorverstäuber, der mit einer besonderen, das Arbeiten auch bei Wind gestattenden Vorrichtung versehen war. — Die tägliche Leistung bei der ersteren Methode ist natürlich sehr gering.
K. Friederichs.

Pfeffer, A., Massenhafte Vermehrung der Forleule im Westen der Slowakei und ihre Bekämpfung. (Rapport de l'Institut pour la protect. des forêts des Instituts des recherches forest. à Prague. Prag 1933. 54 p., 7 Abb.) [Mit dtsch. Zusfassg.]

Die Forleule ist 1930—1932 in der Slowakei verheerend aufgetreten. Die Jahre 1929—1932 hatten daselbst sehr trockene und warme Frühlingsmonate. Es handelt sich um spärlich bestockte, gleichaltrige Kiefernbestände. Die auf dem schlechtesten Boden wachsenden wurden zuerst befallen, später dehnte sich der Fraß auf alle umliegenden aus. Die in Masse auftretenden natürlichen Feinde aus der Insektenwelt und die Hyperparasiten werden aufgeführt. Wildschweine, Dachse und Wühlmäuse halfen mit, hier und da auch die Pilze Empusa aulicae und Isaria farinosa. Ein Teil des befallenen Areals wurde mit Berührungsgiften, ein anderer mit Calciumarseniat bestäubt. Die ersteren Mittel wirkten besser. Borkenkäferfraß als Folge des Raupenfraßes trat nur sporadisch auf, weil die absterbenden Bäume dafür zu schnell austrockneten. Die vielen Borkenkäferarten, die beteiligt waren — insbesondere an liegenden Bäumen — werden namentlich bezeichnet. K. Friederichs.

Winning, E. v., Der Stand der Ausbreitung des Kartoffelkäfers in Frankreich im Herbst 1933. (Nachrichtenblatt f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 14. 1934. S. 47—48.)

Die Befallsstärke hat in den meisten Gebieten sehr zugenommen. 1933 wurden 636 ganze Kantons und 640 einzelne Gemeinden als verseucht bezeichnet gegenüber 569 ganzen Kantons und 534 Gemeinden im Jahre 1932 und 340 ganzen Kantons und 546 einzelnen Gemeinden im Jahre 1931.

Goffart (Kitzeberg b. Kiel).

Subklew, W., Die Bekämpfung der Drahtwürmer. (Eine Übersicht über die Literatur.) (Nachrichtenblatt f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 14. 1934. S. 52—53.)

Die verschiedenen Möglichkeiten der Drahtwurmbekämpfung werden kurz gestreift. Von physikalischen Mitteln kommt lediglich dem Einsammeln von Larven mit der Hand eine gewisse Bedeutung zu. Ködermittel scheinen bei rechtzeitiger Anwendung manchmal erfolgreich zu sein. Chemische Mittel haben dagegen noch keine durchgreifenden Erfolge gebracht; ebenso sind Mittel zur Saatgut-Desinfektion in ihrer Wirkung fraglich. Die Bedingungen, unter denen künstliche Düngemittel zu einem Erfolg führen, stehen noch nicht hinreichend fest. Manche Boden-Desinfektionsmittel haben sich als hochgiftig erwiesen, doch dürfte ihr Anwendungsgebiet begrenzt bleiben. Pflanzenbauliche Maßnahmen, wie Bodenpflege und Fruchtfolge, tragen zur Überwindung von Drahtwurmschäden wesentlich bei. In der biologischen Bekämpfung stehen insektenfressende Vögel an erster Stelle. Andere Feinde spielen ebenso wie die Endoparasiten hiergegen eine untergeordnete Rolle. Abschließend wird festgestellt, daß von allen zurzeit in Betracht kommenden Bekämpfungsmöglichkeiten nicht eine ist, die man als durchschlagend, billig und zuverlässig bezeichnen könnte. Goffart (Kitzeberg b. Kiel).

Langenbuch, R. und Subklew, W., Zur Frage der Drahtwurmbekämpfung mit Kalisalzen. (Nachrichtenblatt f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 14. 1934. S. 21—22.)

Eine Bekämpfung von Larven verschiedener Elateriden-Arten mit Kainit wirkte sich nach Befunden Langenbuchs in Mitteldeutschland günstig aus, während Subklew eine Abnahme der Fraßtätigkeit in kainitgedüngtem Boden unter Berücksichtigung verschiedener Bodenarten und wechselnder Bodenfeuchtigkeit nicht beobachten konnte. Eine gemeinsame Nachprüfung der Ergebnisse ergab nun, daß die unterschiedliche Wirkung durch die verschiedene Herkunft der Larven mit ungleichen physiologischen Eigenschaften bestimmt wird. Goffart (Kitzeberg b. Kiel).

Tierkrankheiten. Tierparasiten.

Burnside, C. E., Studies on the bacteria associated with European foulbrood. (Journ. econom. Entom. Vol. 27 3. 1934 5. p. 656—668.)

Die Ätiologie der europäischen Faulbrut ist ein ungelöstes Problem. Mehrere morphologisch verschiedene Bakterienformen treten mehr oder weniger regelmäßig dabei auf. Es hat sich gezeigt, daß der Bacillus alvei in verschiedenen Formen auftreten kann. Verf. begründet seine Meinung, daß Streptococcus apis und Bacillus pluton identisch sind und als Varianten oder Stadien zu B. alvei gehören u. a. damit, daß Varianten, die B. pluton gleichen, in Reinkulturen von B. alvei und (selten) sporogene Formen von B. alvei in Kulturen von C. apis auftreten. Er urteilt, daß nach dem jetzigen Stand der Kenntnis die Annahme eines pleomorphen Organismus als Erreger dieser Krankheit mehr

Wahrscheinlichkeit für sich habe, als Whites Theorie von den sekundären Organismen. K. Friederichs.

Verbesserungs-Vorschläge für die Frow-Behandlung. I. **Frow, R. W.,** Die Frow-Behandlung gegen Milbenkrankheit. II. **Morgenthaler, O.,** Die Frow-Behandlung in der Schweiz. (Schweiz. Bienenztg. Jahrg. 1933. Sonderdr. 9 S.)

Trotz im allgemeinen recht guter Resultate bei Behandlung milbenkranker Bienenvölker mit dem Frowschen Mittel haben sich dabei doch auch große Verluste eingestellt, die Frow auf folgende 4 Ursachen zurückführt: 1. Anwendung bei zu stark infizierten Völkern, die zu wenig gesunde Bienen enthielten, um einen normalen Haushalt aufrechterhalten zu können. 2. Verhungern infolge Räuberei, die unter dem Einfluß der Behandlung auftreten kann. 3. Mangelhafte Ventilation bei und nach der Behandlung. 4. Komplikationen durch Nosema u. a. Aber es gibt Verluste, die auf keiner dieser Ursachen beruhen können. Verf. hat daher die Anwendung und Dosierung des Heilmittels erneut geprüft und beschreibt, in welcher Art sie in England durchzuführen sei. Man müsse für jedes Kastensystem, für jede Bienenrasse und für jedes Klima die Methode selbst ausprobieren.

Morgenthaler macht für die Schweiz folgende Vorschläge: Keine Behandlung von Dezember bis März. Günstigste Zeit: Ende Oktober, Anfang November. Gegen Räuberei: Einschließen der Völker über Tag. Siebenmalige Anwendung des Mittels in kleinen Dosen. Angebliche Schäden durch die Frow-Behandlung im Waadtland und Unterwallis seien auf Futtermangel oder unrichtige Einwinterung zurückzuführen gewesen.

K. Friederichs.

Verschiedenes.

Kunert, H., Verkürzung der Betriebszeit bei der Dampfsterilisation mit Luftabscheider. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 116. 1934. S. 295—303.)

Das Prinzip der Apparate mit Luftabscheider besteht darin, daß zunächst, wie bei der „Strömungsmethode", die Hauptmenge der im Sterilisierraum befindlichen Luft durch strömenden Wasserdampf von 100° in die freie Atmosphäre, dann ein weiterer Teil der Luft durch Wasserdampf, dessen Temperatur allmählich auf 120° ansteigt, in eine künstliche Atmosphäre (Luftabscheider) ausgetrieben wird. Der Dampf tritt zweckmäßig von oben her in den Sterilisierraum ein, die Austrittsöffnung befindet sich am unteren Ende des Sterilisierraumes. Durch diese Anordnung schichtet sich der Wasserdampf über die spezifisch schwerere Luft, treibt sie vor sich her und, ohne daß Vermischung erforderlich wäre, mit geringem Dampfverbrauch schnell aus dem Sterilisierraum. In Übereinstimmung mit Konrich läßt sich der besondere Vorzug dieser Apparate dahin zusammenfassen, daß die Sicherheit des Sterilisiererfolges durch den Luftabscheider auf den höchstmöglichen Grad gebracht wird, weil die Einfachheit des Verfahrens einen fehlerhaften Verlauf des Sterilisiervorganges praktisch unmöglich macht. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Meyer, P., Der Übergang von Bakteriensporen in das Destillat bei der Wasserdestillation. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 132. 1934. S. 102—110.)

Ein Destillat ist nicht unter allen Umständen als steril zu betrachten. Beim Platzen der an die Oberfläche einer siedenden Flüssigkeit aufsteigenden Blasen werden kleinste Tröpfchen hochgeschleudert, die dann von dem abziehenden Dampfstrom mitgerissen werden. Sind in einem Destilliergut Sporen vorhanden, so können sie mit diesen kleinsten Tröpfchen auf diese Weise in das Destillat gelangen. Auch kompliziert gebaute Apparaturen und die bekannten Destillierauf- und -einsätze vermögen das Überdestillieren lebensfähiger Sporen nicht zu verhindern. Ein mindestens 6 cm starker Wattebausch hält die Sporen mit Sicherheit zurück. Durch Abgabe von Stoffen aus der Watte an den Dampf wird jedoch das Destillat unbrauchbar gemacht. In gleicher Weise verwendete Glaswolle zeigte sich in 3 von 10 Fällen als nicht imstande, Sporen zurückzuhalten. Das Versagen wird auf die Unregelmäßigkeit bei der Lagerung des Materials zurückgeführt. Allen Anforderungen genügend erwies sich Quarzsand, in der gleichen Weise wie Watte und Glaswolle verwendet. Bei 12 Versuchen wurde völlige Keimfreiheit des Destillates erzielt. Die Grenzen der Leistungsfähigkeit des Filters sind erreicht, wenn zweimal nacheinander ohne dazwischenliegende Sterilisierung des Filters von einer Aufschwemmung, die etwa 3 Milliarden Sporen in 750 ccm enthält, je 90 Min. lang abdestilliert wird.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Hanne, R., Thermoelektrische Wärmemessungen mit dem „Dromotherm" und „Wärmegangmesser". (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 132. 1934. S. 245—247.)

Der „Dromotherm" ist vorzüglich für wissenschaftliche Untersuchungen geeignet. bei denen es auf die Temperaturfeststellung an sehr vielen Punkten gleichzeitig ankommt. In der Praxis kommt man mit weniger Meßstellen aus und wird den „Wärmegangmesser" vorziehen. Auf jeden Fall ist die Kontrolle der Sterilisatoren auf thermoelektrischem Wege eine Notwendigkeit, da die Desinfektionsapparate nicht immer im Innern so arbeiten, wie es äußerlich nach der Thermometeranzeige und nach dem Stand des Manometers scheint.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Verona, O., e Bologna, L., Contribuzioni alla conoscenza della batterioriza della „Diplotaxis erucoides" D. C. [Beiträge zur Kenntnis der Wurzelbakterien von D. erucoides.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 1. Nr. 22. 1929. 13 p.)

Die schon früher beobachtete Bakteriensymbiose der Wurzeln von Diplotaxis wurde näher untersucht, wobei sich zwei neue Formen ergaben, die unter der Bezeichnung A und B genau beschrieben wurden. Vollständige diagnostische Tafeln (nach R. Perotti) sind beigegeben.

Morstatt (Berlin-Dahlem).

Schulz, K. G., Neuartige Beschädigungen an Braugersten. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 51. 1934. S. 42—45.)

Die sog. „Kornrissigkeit" entsteht vermutlich durch Spannungsdifferenzen im Korn, die durch Temperatureinwirkungen hervorgerufen werden können. Unter Umständen kann vielleicht auch ein unbekannter, tierischer Schädling als Primärursache betrachtet werden. Die „Kornverfärbung" wird durch eine eigenartige Farbstoffablagerung in der Testa hervorgerufen, die aber nicht auf die Wirkung von Mikroorganismen zurückzuführen ist.

Heuß (Berlin).

Lockemann, G. und Ulrich, W., Über die bakterizide Eigenschaft einiger Chrysoidin-Derivate, zugleich ein Beitrag zur Kombination von Desinfektionsmitteln. (Dtsch. med. Wochenschr. Jahrg. 60. 1934. S. 395—397.)

Ähnlich wie bei den früher untersuchten Alkohol-Säuregemischen ein sich gegenseitig steigernder Einfluß der Komponenten bemerkbar war, so ließ sich auch die Wirkung gewisser Chrysoidinderivate verstärken durch Zusatz von Alkohol, evtl. zusammen mit Jodwasserstoffsäure.

Rodenkirchen (Duisburg).

Neuberg, C. und Kobel, M., Über Darstellung und Bedeutung der Glyzerinsäure-mono-phosphorsäure. (Ztschr. f. angew. Chemie. Bd. 46. 1933. S. 711—713.)

Die Glyzerinsäure-monophosphorsäure ist eine biologisch wichtige Substanz, die man aus frischer Unterhefe, Trockenhefen oder daraus gewonnenen Mazerationssäften darstellen kann. Sie wird von Fermenten angegriffen; bei solchen, die ein zymatisches System einschließen, schreitet die Reaktion weiter fort als eine einfache Hydrolyse, indem Brenztraubensäure und — unter anderen Bedingungen — deren Umwandlungsprodukte Azetaldehyd und Kohlendioxyd bzw. Acetoin gebildet werden. Bei Verwendung von Bazillen, insbesondere von Milchsäurebakterien, gelangt man ebenfalls von der Phosphorglyzerinsäure zur Brenztraubensäure; sie bleibt in diesem Fall unverändert, da den Erregern die Karboxylase fehlt.

Die 3-Glyzerinaldehydmonophosphorsäure vergärt als Razemkörper zur Hälfte. In Gegenwart von NaF kann sie ohne P-Abspaltung dismutiert werden und ergibt Phosphoglyzerinsäure. Dies ist bemerkenswert, weil der Glyzerinaldehyd selbst nicht oder kaum von Hefe angegriffen wird.

Heuß (Berlin).

Bachmann, E., Pilz-, Tier- und Scheingallen auf Flechten (Fortsetzung). (Arch. Protistenkde. Bd. 82 1. 1934. S. 1—22, 19 Abb.)

Verf., der schon früher Pilz-, Tier- und Scheingallen auf Flechten beschrieben hat, kennzeichnet weitere auf solchen gefundene Gallen, und zwar 1. Pilzgallen auf Ramalina fraxinea, 2. Tiergallen auf Pertusaria pertusa. Der Erreger ist nicht bekannt. 3. Scheingallen auf Gyrophora vellea. Diese unterscheiden sich von den echten Tiergallen dadurch, daß sie nicht als Wohnort für die (unbekannten) Erreger dienen, denn sie entstehen erst, nachdem die Tiere den Ort, wo sie das gonidienhaltige Gewebe abweideten, verlassen haben. Auch wird die Flechte nicht in ihrem Wachstum gefördert; es findet keine Vermehrung der Gonidien statt, überhaupt besteht kein symbiotisches Verhältnis. — Es wird zugleich eine kurze Uebersicht der bereits bekannten Flechtengallen gegeben.

K. Friederichs.

Heymons, R. und H., Passalus und seine intestinale Flora. (Biol. Zentralbl. Bd. 54. 1934. S. 40—51, 5 Abb.)

Schon 1853 hat Leidy die Flora des Darms von Passalus beschrieben, aber dieses vielleicht älteste Beispiel für regelmäßiges Vorkommen lebender Pflanzen im Insektenkörper geriet in Vergessenheit. Die Passalus, große, düster gefärbte Käfer, werden familienweise in modernden Baumstämmen tropischer Länder angetroffen, ohne daß aber die Altersstufen in sozialen Beziehungen zueinander ständen. In ihrem Körper sind Wohnsitz pflanzlicher Organismen gewisse Teile des Darmkanals. Der ziemlich kurze Enddarm hat eine

sphinkterartig eingeschnürte Stelle. Davor liegt ein trichterförmiger Teil, dahinter ein sackförmiger. Letzterer ist mit Längsreihen kleiner sackartiger Divertikel besetzt. Dieser Darmteil ist ständig der Sitz einer merkwürdigen Vegetation, die stellenweise als dichter Rasen seine Innenwand bedeckt. „Man kann den Coecaldarm der Passaluskäfer als eine Art Gewächshaus bezeichnen, als einen großen, von der Außenwelt abgetrennten, geschützt im Körperinneren gelegenen Garten, in dem aber nicht nur eine Sorte von Pflanzen gedeiht, sondern verschiedene Gewächse nebeneinander und durcheinander sprießen.“ Es gehören dazu auch Phycomyceten. Der größte und auffallendste Pilz gehört zur Gattung Enterobryus. „Es ist jedenfalls eine ganze Lebensgemeinschaft, die im Innern des Passalusdarmes haust und namentlich vom botanischen Standpunkt aus dringend einer genaueren Durcharbeitung bedarf.“ Bei den Larven ist diese Vegetation schwächer. Verf. erblickt in den Pflanzen des Darmes Commensalen. Bei der Verpuppung und beim Schlüpfen der Imago wird das gehäutete Tier jedesmal von seinen Commensalen befreit. Diese scheinen in dem Holz, von dem die Passalus leben, nicht vorzukommen, es sei denn als Keime; das Zusammenleben der Passalus begünstigt die Infektion.

K. Friederichs.

Weineck, E., Die Celluloseverdauung bei den Ciliaten des Wiederkäuermagens. (Arch. Protistenkde. Bd. 82 1. 1934. S. 169—202, 16 Abb.)

Die mit einem außerordentlich komplizierten Verdauungsapparat ausgerüsteten Ophryoscoleciden sind wesentlich an der Verdauung der Kohlehydrate im Wiederkäuermagen beteiligt. Es hat sich bestätigt, daß Stärke und Zucker von den Ciliaten aufgenommen werden und daß bei der Umwandlung der korrodierten Stärkekörner die Zwischenprodukte Erythrodextrin, Achroodextrin und Maltose entstehen und zuletzt Glykogen bzw. Paraglykogen.

Die morphologisch bekannte Verdauung der Zellulose wurde chemisch untersucht. Eindeutige Mikroreaktionen zeigten, welche Umwandlungen eintreten. Es konnte allerdings nicht festgestellt werden, ob Zellulose als Umwandlungsstufe auftritt, wohl aber gelang der Nachweis der Glukose, des Endprodukts, in 600 Mikroreaktionen. Ein Teil davon wird sofort als Nahrung von den Ciliaten verbraucht; ein anderer Teil wird zu Speicherstoffen (Paraglykogen) umgewandelt und in Hungerperioden verbraucht. Die Frage, ob die Infusorien Eiweiß in wesentlicher Menge für den Stoffwechsel der Wiederkäuer liefern, bleibt offen, aber die Auffassung, daß es sich um symbiotische Beziehungen handelt, ist gerechtfertigt.

K. Friederichs.

Perotti, R., I Laboratori di Patologia e Batteriologia del R. Istituto Superiore Agrario di Pisa e l'annesso R. Osservatorio Regionale di Fitopatologia. (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 2. Nr. 30. 18 S., 12 Taf.)

Ein mit zahlreichen Abbildungen und Plänen ausgestatteter Bericht über die Organisation und die Einrichtungen des Lehrstuhles für Pflanzenpathologie und landwirtschaftliche Bakteriologie am Kgl. höheren Landwirtschafts-Institut in Pisa mit einem Verzeichnis der wichtigsten Veröffentlichungen der bisherigen 4 Jahre. Morstatt (Berlin-Dahlem).

Abgeschlossen am 9. Februar 1935.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 91. No. 22|26.
Ausgegeben am 6. April 1935.

St. John's Disease of Pea in Europe.

By William C. Snyder,
National Research Fellow in the Biological Sciences for the year ending December 1. 1934, stationed at the Biologische Reichsanstalt. Berlin-Dahlem, Germany. Now, Junior Pathologist, Division of Plant Pathology, University of California, Berkeley. California, U. S. A.

With 2 figures in the text.

A limited survey of the Fusariosis of pea, Pisum sativum L., was made in central Europe during the summer of 1934. The purposes of this survey were principally two. First, it was sought to determine what organisms are associated with the failure of peas known in Europe as "St. John's disease", the cause of which has been attributed earlier to Fusarium vasinfectum Atk. v. pisi van Hall (4). Second, it was intended to observe the occurrence and distribution in Europe of the major Fusarium diseases of pea found in the United States, namely rootrot, caused by F. solani (Mart.) App. et Wr. v. Martii (App. et Wr.) Wr. f. 2 Snyder (5, 12), wilt, caused by F. orthoceras App. et Wr. v. pisi Linford (6), and near-wilt, caused by F. oxysporum Schlecht. f. 8 Snyder (13). The results obtained are reported herein with the hope that they may contribute to the mutual understanding of pea Fusarioses in Europe and America[1]).

In 1903 van Hall (4) applied the name St. John's disease to a trouble of peas found in the southwestern part of Holland that occurred at the end of June, approximately coincident with St. John's day (June 24). From diseased plants a Fusarium was isolated which he tested for parasitism upon a few peas grown in water culture. This fungus, named F. vasinfectum v. pisi n. var. without description, has been the commonly reported cause of St. John's disease since. Although van Hall's brief sketches of the fungus indicate that it is a member of the Section Elegans, many uncertainties remain as to just which member of this section he was dealing with. The writer has been unable to obtain an authentic culture of F. vasinfectum v. pisi for purposes of study. In spite of the fact that no culture of the organism has been available and the fungus remains without a description, European literature contains frequent references to the occurrence of this Fusarium upon peas.

Other opinions as to the cause of St. John's disease have also been re-

[1]) The writer expresses his appreciation to the National Research Council of America for making possible the study reported here, to Director Dr. E. Riehm of the Biologische Reichsanstalt for the facilities used in the work, and to Dr. O. Appel for his helpful suggestion in planning the study. The writer is deeply grateful to Dr. H. W. Wollenweber in whose laboratory the isolation and identification work was done, and whose great kindness and generous donation of time enabled the completion of the study.

corded, a summary of which literature has been published recently by Went (17). Among the Fusaria that have been reported associated with the European disease are F. redolens Wr. (21); F. falcatum (8), now F. equiseti (Cda.) Sacc.; F. subulatum (1), new F. herbarum (Cda.) Fr. v. avenaceum (Fr.) Wr.; F. viticola (14), now F. herbarum v. viticola (Thüm.) Wr.; F. Martii, now F. solani v. Martii and F. oxysporum Schlecht. (18).

In a study of St. John's disease in Holland, completed by Went (17) in 1934, several species of Fusaria were isolated from diseased plants and found by her to be parasitic under greenhouse conditions. The most virulent of these were F. solani v. striatum (Sherb.) Wr., F. solani v. Martii, and F. oxysporum. Of less importance were F. solani v. medium Wr., F. equiseti, F. anguioides Sherb., and F. culmorum (W. G. Sm.) Sacc. All Fusaria reported to be pathogenic, and all varieties of pea tested were found susceptible in some degree. In no case was F. vasinfectum v. pisi encountered, although isolations were made from fields in the same pea region in which van Hall (4) had previously worked. It was Went's conclusion that several species of Fusaria my cause the trouble known in Holland as the St. John's disease of pea.

Plan of Survey.

The territory covered by the present survey was principally central Europe, Germany in particular. Some collections were also made of specimens received from Italy and Sweden. Most emphasis was given to central and northern Germany however, for considerable trouble from St. John's disease has been reported from this region in recent years, and here are located major vegetable centers of the country as well as extensive acreages of large seed companies.

The survey for the most part was timed to coincide with the height of the occurrence of the St. John's disease, namely the end of June.

Soon after beginning the survey it became apparent that the name St. John's disease was applied more in a general than in a specific sense. The term was being used to indicate a pea disease complex characterized by a yellowing of the leaves and dying of the plant usually accompanied by some root symptoms. Field examinations of „typical" diseased plants suggested that more than one agency was operating to produce the trouble. In some case the symptoms agreed with Fusarium rootrot (5) in showing a dark brownish cortical decay of foot and root, attended in advanced stages by a deep reddish discoloration of the vascular system some distance above the external signs of rot. A wilt-like condition was observed in other instances in which no serious decay of the foot or root was apparent and which was sometimes not even attended by the more typical discoloration of the vascular system ranging from tan tho deep red. These symptoms agreed in many respects with the near-wilt disease (13). However this disease as well as wilt (16) is difficult to diagnose by field symptoms alone.

In addition to what appeared to be Fusarium diseases, other known diseases of pea were sometimes alluded to under the inclusive term of St. John's disease. The Ascochyta footrots were frequently encountered in such diseased fields. Another important disease frequently found was pea virosis. Mosaic and other symptoms attending the virus diseases of pea (11) were often inconspicuous, other than a general appearance of decline, but could

be seen on close examination. A symptom frequently attending the virus infected plants was a brownish to reddish discoloration associated with the vascular system, which might readily be confused as evidence that a Fusarium was present. Such discoloration was frequently high in the plant, and was generally found sterile when cultured. Discolored tissue of the inner root and epicotyl of these plants also generally yielded no organisms when cultured on agar media, although occasionally F. redolens or F. solani v. Martii were recovered.

Owing to the broadly inclusive usage of the name St. John's disease, it was necessary to select with some care the diseased plants to be used for the purposes of the survey as have been already expressed. An attempt was made to gather specimens representative of the diseased condition in each field visited, where the cause was not already clearly due to virus or some other recognized agent. Especial attention was given to wilt symptoms, particularly when attended to vascular discoloration, both because this seemed most characteristic of the more obscure trouble in the disease complex, and for purposes of comparison with the American wilt diseases. Attention was also given to the root rot of peas, with and without vascular discoloration where it was evident Ascochyta footrots were not the prime cause.

Plants representative of the disease of each field visited were removed to the laboratory and cultured upon acidified potato dextrose agar. After thorough washing the vascular cylinder of the diseased specimen was removed to the plate by cutting away the cortex with a sterile knife. An attempt was made to isolate only from the innermost and uppermost extremities of the diseased tissues. A separate Petri dish was devoted to each plant, and upon the uniform appearance of Fusarium growth from the agar-imbedded tissue transfers were made to other media and dilution plates poured of type cultures for a check upon their purity. The Fusaria were then identified, the results of which are given in Table 1.

Illustrations of the Fusaria isolated are shown in Fig. 1. Average measurements of representative macroconidia are as follows:

Fusarium redolens

3-septate: 35.0 × 5.0 (27.0—43.0 × 4.4—6.5)[1]).
4-septate: 42.0 × 5.2 (38.0—46.0 × 4.8—5.4)

Fusarium solani v. Martii f. 2.

3-septate: 40.0 × 4.9 (31.0—59.0 × 4.5—5.5)
4-septate: 47.0 × 5.0 (38.0—54.0 × 4.5—5.5)
5-septate: 52.0 × 5.2 (45.0—62.0 × 4.7—6.0)

Fusarium oxysporum f. 8.

3-septate: 35.5 × 4.1 (28.0—42.0 × 3.8—4.3)
4-septate: 39.6 × 4.2 (36.0—44.0 × 3.9—4.6)
5-septate: 41.1 × 4.3 (36.0—48.0 × 4.0—4.8)

Fusarium herbarum v. avenaceum.

3-septate: 46.0 × 3.0 (38.0—53.0 × 2.5—3.3)
4-septate: 60.0 × 3.4 (40.0—77.0 × 2.7—4.5)
5-septate: 67.6 × 3.4 (51.0—80.0 × 2.8—4.8)
6-septate: 70.0 × 3.3 (68.0—72.0 × 3.1—3.5)

Fusarium culmorum.

5-septate: 36.0 × 5.2 (33.0—40.0 × 4.7—5.7)

[1]) All measurements are given in microns throughout this paper.

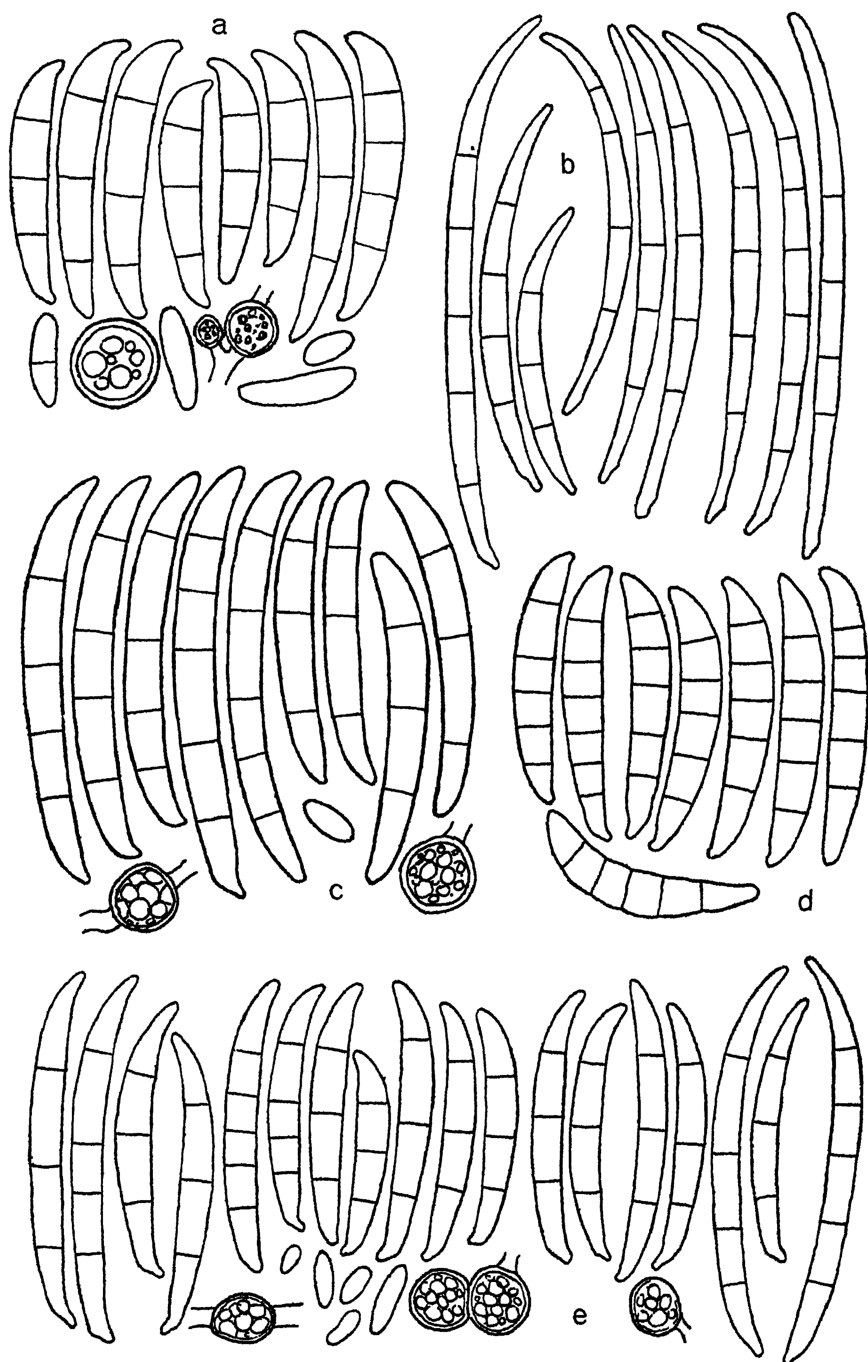


Fig. 1. Conidia from sporodochia representative of the Fusaria found associated with the so-called St. John's disease of peas in Europe during the summer of 1934. (a) F. redolens; (b) F. herbarum v. avenaceum; (c) F. solani v. Martii f. 2; (d) F. culmorum; (e) F. oxysporum f. 8. All 1000 ×.

Table 1. Frequency of various Fusaria isolated from peas suffering from St. John's disease in Europe during the summer of 1934.

Locality		No. of fields	No. of plants	F. redolens	F. solani v. Martii f. 2	F. oxysporum f. 8	F. herbarium v. avenaceum	F. culmorum
Germany	Kiel	1	5	—	4	—	—	—
	Berlin	2	14	6	8	6	2	—
	Markee	2	14	9	5	4	—	—
	Halle	2	12	3	—	8	2	—
	Calbe	1	10	8	2	2	—	—
	Hadmersleben	2	6	1	4	1	—	—
	Aschersleben	4	23	15	2	3	—	—
Italy	Rome	2	3	—	—	3	—	—
Sweden	Stockholm	1	3	—	2	—	—	1
	Lund[1])	1	2	—	2	1	—	—
	Varburg	1	2	—	—	—	—	1
Total		19	94	42	29	28	4	2

[1]) From the cortex of a plant obtained from this locality F. equiseti was isolated in one instance.

The classification of these fungi is based upon the descriptions given by Wollenweber.

Pathogenicity of F. solani v. Martii f. 2.

Pathogenicity tests with F. solani v. Martii f. 2 were made in the following way. A spore suspension was prepared from fresh cultures of the fungus isolated in Germany from root rot infected peas, and distributed near the base of healthy pea plants in a garden plot in Berlin. The inoculation was made June 30 at a time when the plants were 4 to 6 inches high. Three rows, totaling 28 plants were inoculated and several rows left as controls. Five to six weeks late over 90% of the inoculated plants exhibited a reddish brown to almost black cortical decay of the foot and root, typical of natural infections of the disease found in the European survey and in America. In several instances the decay had penetrated to the vascular system which was discolored a deep red for some distance above the zone of cortical rot. F. solani v. Martii f. 2 was re-isolated from these plants. The control rows were free of any root disease with the exception of two plants out of 30 which bore spontaneous infection, one suffering from Ascochyta blight and the other Fusarium root rot. At the same time, and also later, pathogenicity tests on the same organism were made in the greenhouse by growing peas in inoculated soil. In these trials the cortex was decayed in a shorter period, while the control showed no infection. These results leave no doubt that the Fusarium root rot of pea in Europe and America are the same disease caused by the same organism (12).

It is interesting to note that in the first culture series of the root rot Fusarium, made immediately upon the isolation of the fungus, the conidia were generally in complete agreement with F. solani v. Martii, as shown by the preceding average measurements. Two or three months later, however, these same cultures had begun to decline from a condition of high culture to a point where the spore averages and septation frequencies

were lower, approaching the measurements given by Jones (5) in the original description of the fungus in America. This experience is in agreement with recent taxonomic studies in which Snyder (12) showed that the pea root Fusarium, when brought into high culture, is morphologically the same as F. solani v. Martii and therefore must be considered as a physiologic form, forma 2, of this fungus on the basis of its pathogenesis for pea.

Cross Inoculation Test.

In connection with the above pathogenicity trials a cross inoculation experiment on pea, and bean (Phaseolus vulgaris L.), was made using an isolation of the pea root rot fungus, F. solani v. Martii f. 2, from Aschersleben, Germany, and a fresh isolation of the bean root rot organism, supplied by Dr. W. H. Pierce from Idaho, U. S. A. The procedure was as follows:



Figure 2. Illustration of the physiologic specialization of F. solani v. Martii f. 2 and F. solani v. Martii f. 3 for their respective hosts. (a) and (c) Represent pea and bean plants grown side by side in soil inoculated with the bean pathogen, forma 3. The peas remained healthy while the beans developed severe root rot symptoms. (b) and (d) Represent pea and bean plants grown side by side in soil inoculated with the pea parasite, forma 2. In this case the peas became badly diseased while the beans remained healthy. The pea and bean seeds were all planted at the same time, and the results shown here were obtained five weeks later.

A lot of well mixed soil was divided into three portions. One portion was inoculated with F. solani v. Martii f. 2, another with F. solany v. Martii f. 3, and the third was left untreated. These three soils were placed in the greenhouse and on September 4, 1934, each soil was planted with a mixture of pea (Alaska variety) and bean (wax bush type) seeds. Five weeks later, on October 9, 1934, symptoms of disease were apparent on certain of the plants in the inoculated soils, and all plants were dug for examination.

The results were convincing in demonstrating the physiologic specialization of these two forms of F. solani v. Martii. In the soil inoculated with the pea parasite, forma 2, a dark brown cortical decay was conspicuous upon the foot and root ol all pea plants, while the bean plants in this soil remained healthy, as shown in Fig. 2, b and d. On the other hand, the peas grown in the soil inoculated with the bean pathogen, forma 3, were all sound, while the bean plants in this same soil were so severely dis-

eased that the leaves were already yellowish and somewhat wilted and the entire underground part of the plant marked by a dark reddish brown cortical decay, illustrated in Fig. 2, a and c. Both the pea and bean plants grown in the untreated soil developed free of diseases.

Although morphologically the same (12), the pea root rot organism F. solani v. Martii f. 2 is again shown by this experiment to be distinct physiologically as measured by pathogenesis, from F. solani v. Martii f. 3 (3).

Pathogenicity of F. oxysporum f. 8.

A preliminary pathogenicity trial was made with a culture of F. oxysporum isolated from diseased pea plants grown in the vicinity of Rome, Italy. A row of ten healthy plants of the variety Early May, growing in the same garden plot as used in a previously described test of F. solani v. Martii f. 2, were inoculated June 30 when the peas were 4 to 6 inches high by pouring a spore suspension of the organism near the base of the plants. Six weeks later three of the ten plants were dead and a pinkish sporulation had appeared on the lower portion of the stem under the conditions of high humidity prevailing. Pure cultures of the original F. oxysporum used in the inoculations were recovered from these plants, and the morphology of the spores on the stem surfaces agreed with that of the fungus when grown in pure culture. No instance of infection with F. oxysporum was found in the check rows, in fact these three plants in the inoculated row were the only cases in which an Elegans Fusarium was isolated from this plot during the entire season. The scope of the experiment is small, and must be supplemented by further work, but the results were positive and appear significant at this time.

Upon culturing the 3 original diseased plants, obtained in the vicinity of Rome, Italy (Table 1), striking pure cultures of the same fungus were obtained in each case. The colonies on acidified potato dextrose agar in Petri dishes were slightly zonate, the medium showed a purple pigmentation, and a light, salmon colored pionnotes appeared on the agar surface attended by only scant mycelial growth. Dilution plates of the spores were poured for a check upon the purity of the fungus and several single spore cultures made. Observations were made upon this Fusarium over a period of about three months in several transfer series and on a number of media. A broad range in cultural behavior was exhibited during this period of a type previously reported (10) for another fungus of Section Elegans. The morphological range of the fungus is seen in the conidial measurements. The same pure culture, under ordinary cultural treatment, varied considerable although no more than was observed in the case of certain Martiella Fusaria (12). Three-septate conidia from sporodochia at one time averaged 37 × 3.8. The color on rice was red, a distinct odor was discernible and no sclerotia were observed on the various media. These observations in addition to those already noted suggested that it might be a member of the form circle of F. vasinfectum. At another time the same fungus in another transfer series but on the same medium agreed more closely with F. oxysporum v. aurantiacum in color, sclerotia, and in average measurements of 3-septate and 5-septate conidia from sporodochia, which were 38 × 4.3. and 44 × 4.3, respectively. In still other series best agreement was obtained in a comparison with F. oxysporum as seen by the

following spore averages: 3-septate: 34 × 4.1, 5-septate: 37 × 4.2. An average of the average measurements obtained from the different series and various media closely approximated Wollenweber's (18) figures for oxysporum, and the fungus has been so classified.

The range in pigmentation of the same pure culture was perhaps more striking than the morphologic variation and paralleled that observed with F. orthoceras v. pisi (10). It has been well demonstrated in the past that the manner in which transfers of Fusarium cultures are made largely determined both the amount and kind of sporulation, and the macroscopic characters including pigmentation of the new transfer. Wollenweber (17) described and illustrated the phenomenon with a colored plate in connection with F. bulbigenum Cke. et Mass. v. batatas Wr. (F. batatas). Brown (2) also showed that mycelial or pionnotal, or sclerotial strains could be obtained from the same culture of Fusarium depending upon whether mycelia, conidia, or sclerotia were selected in making transfers. A comparable range in fungus variability was obtained by Snyder (10) with still another Fusarium, through the use of single spore isolations. In view of these experiences a number of transfers were made of the culture of F. oxysporum under consideration, using white mycelia, colored mycelia, conidia, and sclerotia for the various transfer inocula. The differences were large. Rice cultures varied from pale flesh color[1]) to jasper pink, to nepal red or carmine. On oatmeal certain transfers yielded cultures characterized by pionnotes but no pigmentation of the medium whatever, while in other transfers the plectenchyma and medium were stained a deep vinaceous lavender to dark slate-purple to dull purplish black. Some cultures were almost entirely pionnotal, others almost wholly mycelial, while some produced sclerotia abundantly and others none. The previous cultural history and age of the pure culture seemed to have an important bearing upon the phenomenon, for a transfer of pionnotal conidia from a non: pigmented subculture. Several factors appear to operate in the determination of these variable fungus characters, as shown by Brown (2), and his experience that zonation sometimes may be a variable and undependable character was also made by the writer in this instance. Identification of the fungus has therefore been based upon the morphological characters described by Wollenweber (20) under the name F. oxysporum.

A preliminary pathogenicity test with an isolation of F. oxysporum from diseased peas in Germany also gave evidence of parasitism, as has already been reported (17) for the Holland culture. Since these cultures of F. oxysporum from various parts of Europe are parasitic upon pea and agree morphologically with the near-wilt Fusarium of America (13), they have been identified as F. oxysporum f. 8.

Discussion.

The foregoing observations upon the St. John's disease confirm Went's (17) conclusion that this expression has been used to refer to a pea disease complex and not to a specific disease. With a few exceptions the same Fusaria were found associated with the disease that Went has recorded for Holland. The most conspicuous exception is in the case of

[1]) Color standards and nomenclature. R. Ridgway, Washington, D. C. 1912.

F. redolens. This fungus was among those most frequently isolated in Germany but is not recorded in the Holland survey.

Through pathogenicity tests the writer has segregated the root rot disease, caused by F. solani v. Martii f. 2, from the disease complex, and identified it with the American root rot of pea. In Holland Went (17) reports that F. solani v. striatum (Sherb.) Wr. and F. solani v. Martii were the most virulent Martiella Fusaria on pea. A culture of the former was obtained from Dr. Went and found to agree with both German and American isolations of F. solani v. Martii f. 2. Zonation, which has been the chief basis of its differentiation from F. solani v. Martii, is frequently found in both American and European cultures of the pea root rot Fusarium under certain conditions, and does not appear in this case to justify varietal value. Went's parasitic form of F. solani v. Martii also may be considered a synonym of F. solani v. Martii f. 2. The other member of Section Martiella found parasitic in the Holland study was reported as F. solani v. medium. In occasional instances the writer encountered cultures of the root rot Fusarium which in young cultural stages on most media yielded broad conidia of a type that have been described for F. solani v. medium, but these same cultures later produced only conidia normal for F. solani v. Martii f. 2. The average width for abnormal macroconidia of the root rot Fusarium has ranged from 5.5 to 6.5, approximately that recorded for F. solani v. medium, instead of the normal 4.5 to 5.5. Jones (5) has reported a variation in virulence among different isolations of the root rot Fusarium from pea in America, which also may be expected in Europe and which might account for the differences in virulence observed in this connection.

Pathogenicity tests with isolations of F. oxysporum obtained in the survey have not been completed, but preliminary trials with the German and Italian cultures indicate that they, like the Holland isolant (17), are parasitic upon peas under the conditions of the experiments. Upon the basis of this capacity for parasitism, and also a study of their morphology, these European isolations from pea are classified as F. oxysporum f. 8, cause of the near-wilt disease of pea in America. Since the Holland observations as well as those reported here have shown that the name St. John's disease has come to stand for a pea disease complex, the name St. John's wilt is proposed to designate that specific disease of the complex caused by F. oxysporum f. 8. The European St. John's wilt and the American near-wilt are treated in this paper as one disease, caused by F. oxysporum f. 8 (synonym F. vasinfectum v. pisi).

Two of the major Fusarium diseases of pea in America then, namely root rot and near-wilt, have been identified with the corresponding European diseases. The third major Fusarium disease, caused by F. orthoceras v. pisi, has not as yet been definitely linked with any European disease of pea. Why this disease has not been encountered in Europe is not clear. The soil temperature could hardly be considered a limiting factor especially in view of the widespread infection by F. solani v. Martii which is favored by slightly higher temperature than wilt (5, 6). Factors which might be concerned with the apparent absence of wilt in Europe are the use of varieties resistant to wilt (15), and soil incompatibility (7, 16). Since the wilt disease is seed borne (9) it may be assumed that the fungus has been introduced into Europe.

Preliminary inoculation tests with F. redolens have yielded so far no positive evidence of parasitism, although plants grown in inoculated soil have produced poorer growth in comparison with un-inoculated controls. However the fact that F. redolens has been isolated in some cases from within the roots of plants grown in inoculated soil. indicates that the fungus may sometimes be a factor in pea disease.

No organism, isolated by either Went (17) or the writer from peas showing the general symptoms of St. John's disease in Europe, has been identified as F. vasinfectum v. pisi. The reddish pigmentation on certain culture media, the presence of terminal chlamydospores, and shape of the macroconidia given very briefly by van Hall (4) is evidence that the fungus he dealt with is a member of the Section Elegans. In view of the fact that F. oxysporum f. 8 is very close to F. vasinfectum morphologically, and since F. oxysporum f. 8 has frequently been isolated from diseased peas in the present survey and by Went in Holland, to the exclusion of all other Elegans Fusaria with the exception of F. redolens, which is not usually red in culture and which has a distinct morphology, it seems most logically concluded that v. Hall's F. vasinfectum v. pisi is but a synonym of F. oxysporum f. 8. It can not be F. orthoceras pisi because van Hall mentions the appearance of macroconidia in very young cultures and sporodochia. This synonym is further supported by the fact that strains of F. oxyosporum f. 8 have been isolated which exhibit a wide range of morphologic and macroscopic characters and which in certain cultural stages might have been described under the name of F. vasinfectum. Such isolations have been made from fields pointed out as being badly diseased by F. vasinfectum v. pisi.

Summary.

An analysis of the Fusaria associated with the so called St. John's disease of pea is reported on the basis of a survey made in Central Europe during the summer of 1934.

The name St. John's disease, although originally applied to a single disease attributed to F. vasinfectum v. pisi, has come to stand for a pea disease complex characterized by the general symptoms of yellowing and premature death. Diseases other than those caused by Fusarium have been found under this name, including Ascochyta footrots and virosis of pea.

The following Fusaria were isolated from peas showing symptoms of disease: F. redolens, F. solani v. Martii f. 2, F. oxysporum f. 8, F. herbarum v. avenaceum, and F. culmorum.

By means of inoculation experiments the foot and root rot of pea, caused by F. solani v. Martii f. 2, was found to be symptomologically and etiologically identical with the Fusarium root rot of pea in America. The F. solani v. striatum, reported parasitic on peas in Holland, is classified as a synonym of F. solani v. Martii f. 2.

Evidence is given showing that the isolations of F. oxysporum from diseased peas in Europe agree with F. oxysporum f. 8, the cause of near-wilt of pea in America. The name "St. John's wilt" is used to distinguish this disease from the group of pea diseases usually indicated

by the term "St. John's disease". St. John's wilt and near-wilt are considered to be the same disease.

The American pea wilt, caused by F. orthoceras v. pisi, so far has not been found in Europe.

Although the other Fusaria isolated, namely F. redolens, F. herbarum v. avenaceum, and F. culmorum have not been tested adequately for parasitism by the writer, evidence given by other workers indicates that these may be factors in disease under certain conditions of pea culture.

Literature Cited.

1. Appel, O., and Wollenweber, H. W., Grundlagen einer Monographie der Gattung Fusarium. (Arb. K. Biol. Anst. f. Land- u. Forstwirtsch. Bd. 8. 1910. S. 1—207.) — 2. Brown, W., A study of forms of Fusarium occurring on apple fruit. (Rpt. Imperial Botanical Conference. London, July, 1934.) — 3. Burkholder, W. H., The dry root rot of bean. (Cornell Agr. Exp. Sta. Memoir 26. Ithaca. 1919. p. 999—1033.) — 4. Hall, J. C. van, Die Sankt-Johannis-Krankheit der Erbsen, verursacht von Fusarium vasinfectum Atk. (Ber. d. Dtsch. Bot. Ges. Bd. 21. 1903. S. 2—5.) — 5. Jones, F. R., Stem and rootrot of peas in the United States caused by species of Fusarium. (Journ. Agr. Res. Vol. 26. 1923. p. 459—475.) — 6. Linford, M. B., A Fusarium wilt of peas in Wisconsin. (Wis. Agr. Exp. Sta. Res. Bul. 85. 1928. 44 p.) — 7. Reinking, O. A., Soil and Fusarium diseases. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 91. 1935. p. 243.) — 8. Schikorra, G., Fusarium-Krankheiten der Leguminosen. A. Die Sankt-Johannis-Krankheit der Erbsen. (Arb. a. d. K. Biol. Anst. f. Land- u. Forstwirtsch. Bd. 5. 1906. S. 157—188.) — 9. Snyder, W. C., Seed dissemination in Fusarium wilt of pea. (Phytopathology. Vol. 22. 1932. p. 253—257.) — 10. Snyder, W. C., Variability in the pea wilt organism, Fusarium orthoceras v. pisi. (Journ. Agr. Res. Vol. 47. 1933. p. 65—88.) — 11. Snyder, W. C., Pod deformation of mosaic-infected peas. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 78—80.) — 12. Snyder, W. C., Notes on Fusarium of the Section Martiella. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 91. 1934. S. 163—184.) — 13. Snyder, W. C., and Walker, J. C., Fusarium near-wilt of pea. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 91. 1935. S. 355—378.) — 14. Turesson, G., Fusarium viticola Thüm. infecting peas. (Bot. Notiser. Vol. 4. 1920. p. 113—125.) — 15. Walker, J. C., Resistance to Fusarium wilt in garden, canning, and field peas. (Wis. Agr. Exp. Sta. Res. Bul. 107. 1931. 15 p.) — 16. Walker, J. C., and Snyder, W. C., Pea wilt and root rots. (Wis. Agr. Exp. Sta. Bul. 424. 1933. 16 p.) — 17. Went, J. C., Fusarium-Aantastingen van Erwten. Utrecht (Drukkerij Hooijenbos & Co.) 1934. N. V. 83 p. — 18. Wollenweber, H. W., Studies on the Fusarium problem. (Phytopathology. Vol. 3. 1913. p. 24—50.) — 19. Wollenweber, H. W., Identification of species of Fusarium occurring on the sweet potato, Ipomoea batatas. (Journ. Agr. Res. Vol. 2. 1914. p. 251—285.) — 20. Wollenweber, H. W., Fusarium-Monographie. (Ztschr. f. Parasitenkde. Bd. 3. 1931. S. 269—516.) — 21. Wollenweber, H. W., Fungi imperfecti in Sorauers Handbuch der Pflanzenkrankheiten. Bd. 3. Teil 2. 5. Aufl. 1932. S. 577—819.

Zur Frage der quantitativen Bestimmung von Mikroorganismen nebst einer neuen diesbezüglichen, allgemeinen Bestimmungsmethode.

[Aus dem Institut für allgemeine Botanik und Pflanzenphysiologie, Universität Cluj (Klausenburg).]

Von **Erwin Reimesch.**

Mit 1 Abbildung im Text.

Die großen Unterschiede und Widersprüche in den Ergebnissen der Wachstumforschung von Mikroorganismen lassen sich fast alle auf die Unzweckmäßigkeit bzw. Fehlerhaftigkeit der jeweils verwendeten quantitativen Bestimmungsmethode zurückführen. Auch gestatten diese Ergebnisse nur ungefähre gegenseitige Vergleiche, da sie Methoden entstammen, denen verschiedene quantitative Bestimmungsprinzipien zugrunde liegen. Es wäre demnach auch schon aus diesem Grunde angezeigt, bei gleichgerichteten Untersuchungen über Mikroorganismenwachstum eine für alle Mikroorganismen gültige und anwendbare Bestimmungsmethode zu benutzen.

Im Bestreben, eine diesbezügliche allgemeine, einheitliche, quantitative Bestimmungsmethode zu schaffen, erprobte ich die brauchbarsten bekannten Methoden bei verschiedensten Mikroorganismen und stellte fest, daß bei Verwendung verschiedener Methoden bei der gleichen Mikroorganismenaufschwemmung die Ergebnisse bedeutend variierten, um wieviel größer müssen diese Unterschiede dann erst bei morphologisch verschiedenen Mikroorganismen sein. Eine allgemeine quantitative Bestimmungsmethode müßte demnach in erster Linie der äußeren Morphologie und dem spezifischen Gewicht der Mikroorganismen Rechnung tragen. Wie wenig aber diese Forderung berücksichtigt wird, kann man aus der Leichtfertigkeit ersehen, mit der die verschiedenen Methoden zur quantitativen Bestimmung von morphologisch und gewichtsspezifisch ganz ungeeigneten Mikroorganismen verwendet werden. Zur quantitativen Bestimmung von speziellen Mikroorganismen mögen sich diese einzelnen Bestimmungsmethoden – von ihren oft großen Fehlergrenzen abgesehen – sicher recht gut eignen, für eine allgemeine Bestimmungsmethode kommt indes nur die auf dem Sedimentierprinzip durch Zentrifugieren fußende Methode in Betracht. Diese Methode ermöglicht es allein, die gewichtsspezifischen Unterschiede der verschiedenen Mikroorganismen durch Änderung der Zentrifugiergeschwindigkeit oder -dauer, bei Vernachlässigung ihrer äußeren Form, bequem zu berücksichtigen. Bei der so oft angewandten Zählmethode der Mikroorganismen mittels Zählkammern und -platten ist diese Berücksichtigung unmöglich oder doch wenigstens sehr erschwert, vor allem aber nie durchgeführt worden! Es wäre nämlich die Möglichkeit gegeben, die bei der Zählkammermethode so störend empfundene rasche Sedimentiertendenz der spezifisch schweren Mikroorganismen, durch Zugabe spezifisch schwerer Flüssigkeiten, wie Glyzerin z. B., zur normalen Suspensionsflüssigkeit der Probe teilweise zu beheben. Während aber der zweite Faktor – die äußere Form der Mikroorganismen — bei der Zentrifugiermethode nicht

wesentlich von Belang ist, fällt ihm bei der Zählmethode ausschlaggebende Bedeutung zu und ist ein unüberwindbares Hindernis für die Ausgestaltung dieser Methode zu einer allgemeinen, für alle Mikroorganismen gültigen quantitativen Bestimmungsmethode.

Die für die Blutkörperchenzählung geschaffenen, verschiedenen Zählkammern (1) eignen sich auch ganz gut zur zahlenmäßig quantitativen Bestimmung von in Form und spezifischem Gewicht den Blutkörperchen nahekommenden Mikroorganismen, doch Mikroorganismen, die wesentlich von einer isodiametrischen Gestalt abweichen, oder eine gewisse Größe erreichen, oder andere die Zählung störende Eigentümlichkeiten, wie Gruppen-, Knäuel-, Faden- u. a. -bildung zeigen, mit der Zählkammer zahlenmäßig genau zu erfassen ist wenig aussichtsreich, wenn nicht gar unmöglich. Svanberg (2) schätzt die Genauigkeit der Zählmethode schon bei dem relativ günstigen Objekt der Bierhefe auf 4%, bei dem schon weniger günstigen Objekt der einzelligen Grünalge Stichococcus minor stellte ich als wahrscheinlichen Fehler der Zählungen 7,4% fest. Bei morphologisch noch ungeeigneteren Objekten müßte mit einer Fehlergrenze von weit über 10% gerechnet werden. Ebensowenig kommen bei solchen morphologisch ungünstigen Mikroorganismen zahlenmäßige Bestimmungsmethoden in Betracht, wie sie bei Bakterien oft erfolgreich angewendet werden, so das Naumannsche Platten- (3) und das Lindnersche Tröpfchenkulturverfahren (4) oder die Zählung mittels der Lafarschen Zählplatte (5) und mit dem Ultramikroskop (6).

Quantitative Bestimmungsmethoden für Mikroorganismen, denen quantitative Bestimmungen ihrer Abbau- bzw. Aufbauprodukte zugrunde liegen, mögen in besonderen Fällen wohl angezeigt sein, allgemein sind sie jedoch auch nicht anwendbar, da die verschiedenen physiologischen Prozesse von vielen Faktoren abhängig sind und diese in den verschiedenen Versuchen nicht immer gleich sein müssen. Aus der Quantität der Stoffwechselprodukte läßt sich demnach immer nur ein ungefährer Schluß auf die Quantität der in einer Kultur befindlichen Mikroorganismen ziehen und die physiologischen Prozesse sind demnach kein ausschließlicher Ausdruck der Zellbildung (7). Somit gibt auch die in der Braupraxis oft angewandte Methode, durch Bestimmen des spezifischen Gewichtes der Bierwürze bzw. deren Alkoholgehalt auf den Wachstumsverlauf der Hefe zu schließen, auch nur annähernd genaue Daten. Von diesem Standpunkt aus betrachtet eignen sich auch nephelometrische Methoden nicht immer zur quantitativen Bestimmung von Mikroorganismen, obzwar sie in besonderen Fällen Vergleichswerte für die einzelnen Proben eines Versuches recht gut zulassen. Aus der Intensität der Grünfärbung z. B. von Kulturen einzelliger Grünalgen auf deren Zellenzahl zu schließen ist nur für grobe Orientierungen zulässig, für genauere Bestimmungen kommt eine diesbezügliche Methode auch nicht in Betracht schon infolge der leichten Beeinflussung der Algenchromatophoren durch innere und äußere Faktoren.

Wenn jede der erwähnten Methoden ihre Vorteile für die quantitative Bestimmung der entsprechenden Mikroorganismen, für die sie geschaffen wurde, auch haben mag, so ist die auf volumetrischer Erfassung und doch zahlenmäßiger Wiedergabe der Mikroorganismen aufgebaute Präzipitiermethode zum Ausbau einer allgemein gültigen, quantitativen Bestimmungsmethode für Mikroorganismen am geeignetsten. Auch in bezug auf Schnelligkeit und Einfachheit der Ausführung sowie Zuverlässigkeit ist

sie allen anderen Methoden überlegen, wenn es auch nicht von der Hand zu weisen ist, daß auch diese Methode ihre Nachteile besitzt. Einmal erfordert sie eine weitaus größere Apparatur als die Zählkammermethode und zweitens müssen die zur Verwendung kommenden Präzipitometer ungemein sorgfältig und gleichförmig hergestellt sein, und trotzdem wird es infolge Sedimentierung eines Teiles der Mikroorganismen an der trichterförmigen Wandung der Übergangsstelle zwischen breiterem und schmälerem Teil des Präzipitometers nie zu einer vollkommen quantitativen Erfassung der Mikroorganismen in der betreffenden Probe kommen. Ich beobachtete, daß sogar bei peinlichst genau gearbeiteten und ausgesucht einwandfreien Präzipitometern nach mehrmaligem vorsichtigen Aufwirbeln mittels eines feinen Pinsels und nachträglichem Umpipettieren der über dem Niederschlag der bereits zentrifugierten Probe befindlichen Flüssigkeit in andere Präzipitometer und entsprechendem Zentrifugieren oft über 5% der Gesamtmikroorganismenmasse im kritischen Präzipitometerteil zurückbleiben. Dieser Fehler kann leider nicht als konstanter Fehlerfaktor in Rechnung gebracht werden, da er von Präzipitometer zu Präzipitometer wechselt, von der äußeren Form der suspendierten Mikroorganismen, der Suspensionskonzentration der Mikroorganismenaufschwemmung und schließlich von der Zentrifugiergeschwindigkeit abhängt, Faktoren, die von Fall zu Fall wechseln. Dieser Fehler ist beim Zentrifugieren von mehr isodiametrischen Mikroorganismen verhältnismäßig kleiner als bei solchen mit großen Achsenunterschieden, so z. B. bei Saccharomyces cerevisiae 2,4, bei Stichococcus mirabilis dagegen schon 5,7%. Ein „Entlangrollen“ isodiametrischer Formen unter der Wirkung der Zentrifugalkraft an der trichterförmigen Gefäßwand der Präzipitometer ist demnach hinsichtlich quantitativer Sedimentierung einem „Entlanggleiten“ nichtisodiametrischer Formen überlegen. In schöner und eindringlicher Weise konnte diese Tatsache unter dem Mikroskop beobachtet werden in Versuchen auf Objektträgern mit verschiedenen Mikroorganismen-Aufschwemmungen, wobei die Zentrifugalkraft durch die horizontal wirkende Saugkraft eines seitlichen Filtrier-Papierstreifens und die Reibung der Mikroorganismen an der trichterförmigen Präzipitometerwand durch die unter Zusammenwirkung von Schwerkraft und Saugkraft entstehende Reibung der Mikroorganismen am Objektträger wiedergegeben wurden. Die von Cardot und Richet (8) bei ihren Milchsäurebakterien-Versuchen sowie von Schweitzer (9) bei seinen Hefewachstums-Untersuchungen beobachteten großen Unterschiede im Ergebnis der Einzelproben eines Versuches, beruhen meiner Ansicht nach viel mehr auf dieser und ähnlichen technischen Unzulänglichkeiten der verwendeten Methode als auf Individualitäts-Unterschieden der einzelnen Zellen. Krueger (10) gibt als mittleren Fehler in seinen auch auf dem Sedimentierprinzip aufgebauten quantitativen Bestimmungsmethode 1% bei dichten und 4% bei weniger konzentrierten Hefesuspensionen an, während er bei der Zählmethode 2 bzw. 5% Fehler feststellte.

In der Apparatur der neuen allgemeinen quantitativen Bestimmungsmethode für Mikroorganismen wurde die bei den verschiedenen Präzipitometern so störend empfundene trichterförmige Übergangsstelle durch Verwendung von Präzipitometern mit nur paralleler Wandung vermieden. Das bei anderen Zentrifugiermethoden gleichzeitige Nebeneinanderlaufen von Sedimentierung und Dosierung wurde in der neuen Methode in ein getrenntes Nacheinanderlaufen aufgelöst. Der daraus sich ergebende Zeitverlust wird

dadurch wettgemacht, daß die Form der neuen Präzipitier- und Dosierröhrchen das Zentrifugieren von nicht nur 4, sondern von gleich 16 Proben in einer gewöhnlichen 4-armigen Eccozentrifuge zuläßt. Die Dosierröhrchen sind ungradiert, jedoch bezüglich Gleichheit ihres Fassungsraumes genau kontrolliert. Die Ablesung der Sedimenthöhe wird weder mit Kathetometer noch Lupe, sondern mit einem Horizontalmikroskop und Mikrometerokular vorgenommen, wodurch die kostspielige Gradierung der Präzipitometer überflüssig und die Ablesung genauer wird. Die Proben werden aus den Kulturgefäßen mittels sterilen, mit $^1/_{100}$ ccm Graduierung versehenen Pipetten sofort nach dem Aufschütteln der Kulturen entnommen. Bei vielen Versuchen auf dem Gebiete der Mikroorganismenphysiologie kann ein Aufschütteln der Proben bei jeder Probeentnahme oft von großer Bedeutung und Effektauslösung sein, wie z. B. bei Bestimmungen des Endvergärungsgrades von Hefen (11), bei Untersuchungen über den Einfluß des Sauerstoffs (12) oder der Lageverhältnisse des Hefesedimentes auf die Gärung (13), u. a. In solchen Fällen, wo eine Sauerstoffzumischung durch Schütteln der Proben vermieden werden soll, ist es angezeigt, die Reinkulturen des Versuches nicht in einem Gefäß anzulegen, sondern in mehreren (14), die durch ein entsprechendes Stativ, was die äußeren Faktoren anbetrifft, in vollkommen gleicher Lage gehalten werden. Zu jeder Probeentnahme wird ein neues Kulturgefäß genommen, dessen Sediment dann durch Schütteln in Suspension gebracht werden kann. Das Anlegen der Versuchsproben in mehreren kleineren Gefäßen ist auch schon aus praktischen Gründen anzuempfehlen, da bei einer mehrmaligen Probeentnahme aus einem Gefäß nur zu leicht Fremdinfektion eintreten kann und dadurch der ganze Versuch in Frage gestellt wird. Der Konzentration der Suspension entsprechend entnimmt man pro Probe 0.5—2 ccm der Mikroorganismenaufschwemmung und pipettiert gleich in die bereitstehenden paraffinierten Zentrifugierröhrchen über. Dieses sind einfache, stumpf endigende Röhrchen von 11,5 cm Länge und 2 ccm Fassungsraum. Die Paraffinierung ist zwecks Vermeidung von Verlusten durch Wandbenetzung erforderlich und wird zweckmäßig in der Art ausgeführt, daß man die trockenen, erhitzten Röhrchen mit einem an einem starken Draht befestigten und heißem, geschmolzenem Paraffin vollgesogenen Wattebäuschchen einige Male durchstößt und sie dann sofort in kaltes Wasser hängt. Nach einiger Übung kann leicht eine einwandfreie, gleichmäßige Paraffinierung erzielt werden. Das Ausgießen der Röhrchen mit heißem Paraffin ist weniger gut, da es immer zu Streifen- und Wulstbildung kommt, wie schnell auch immer gearbeitet wird. Ob die Proben mit oder ohne Zugabe von Formalin, NaOH-Lösung u. a. zentrifugiert werden, richtet sich nach der Art der Mikroorganismen; bei Gärungsmikroorganismen ist er entschieden angezeigt, um ein etwaiges Aufwirbeln des Niederschlages durch aufsteigende Gasbläschen zu vermeiden. Bei solchen oder ähnlichen Zugaben muß dem Endverdünnungskoeffizient der Probe immer Rechnung getragen werden und die Gleichheit dieses ungemein wichtigen Faktors in allen Proben eines Versuches durch entsprechendes Variieren der Zugabeflüssigkeitskonzentration gewahrt bleiben. Abgesehen davon, daß die Sedimentiergeschwindigkeit der Mikroorganismen von der Konzentration der Suspensionsflüssigkeit grundlegend beeinflußt wird, bedingen Formalin u. a. Zugaben die verschiedensten chemischen und physikalischen Umwandlungen an der Mikroorganismenzelle, die sich nur zu oft auch auf die Komprimierbarkeit des zentrifugierten Sedi-

mentes auswirken und dadurch die Niederschlagshöhe beeinflussen können. Wenn nicht unbedingt nötig. sollen solche Zusätze nach Möglichkeit vermieden werden.

Ich fand nach Zugabe von 1 ccm einer 25proz. Glyzerinlosung zu 1 ccm einer 1proz. Hefeaufschwemmung gegenuber Proben mit 1 ccm destillierten Wasserzusatz, bei gleicher Zentrifugierdauer und -geschwindigkeit Unterschiede bis zu 7°₀ in der Hohe des Hefesedimentes. Um auch in den Proben mit dem Glyzerinzusatz eine quantitative Sedimentierung und die Sedimenthöhe wie in den Proben mit Wasserzusatz zu erhalten, mußten diese noch erheblich langer zentrifugiert werden, ein Beweis für die Beeinflussung der Sedimentiergeschwindigkeit durch die Dichte der Suspensionsflüssigkeit.

Die zur quantitativen Sedimentierung von Mikroorganismen notwendige Zentrifugiergeschwindigkeit und -dauer ist auch noch von Form und spezifischem Gewicht der suspendierten Organismen abhängig. Um möglichst wenig Zeit zu verlieren, ist ein kurzes Zentrifugieren der Präzipitierröhrchen bei hoher Umdrehungsgeschwindigkeit empfehlenswert. Mit 15 Min. Zentrifugieren bei 2000—2500 Umdrehungen pro Minute ist auch bei den kleinsten und spezifisch leichtesten Mikroorganismen eine quantitative Sedimentierung zu erreichen. Durch mikroskopische Prüfung der überstehenden Flüssigkeit auf etwa noch vorhandene Mikroorganismen ist eine sichere Handhabe gegeben, den Zeitpunkt der quantitativen Sedimentierung festzustellen. Nach dem Zentrifugieren der Präzipitierröhrchen wird die überstehende Flüssigkeit nun mittels lang und dünn ausgezogener Pipetten vorsichtig abpipettiert, wobei sich die seitlich angebrachte Pipettenöffnung immer knapp über dem Mikroorganismensediment befindet. Der letzte Tropfen der Suspensionsflüssigkeit verbleibt im Präzipitierröhrchen. Es ist zweckmäßig, zwischen Mund bzw. Saugball mit Ventil und Pipette einen 0,5 m langen, dünnen Gummischlauch einzuschalten, was das Manipulieren mit der Pipette ungemein erleichtert. Durch Schütteln der Präzipitierröhrchen wird das Sediment im letzten Tropfen der Suspensionsflüssigkeit wieder aufgeschwemmt und dieser dann durch eine drehende Bewegung der nach unten geneigten Röhrchen an deren Rand gebracht.

Die eigentliche Dosierung des Mikroorganismensedimentes geschieht in besonderen Dosierröhrchen.

Dieses sind starkwandige 11,5 cm lange und 6,5 mm dicke Glasröhrchen mit genau gleichem Fassungsraum und Durchmesser im Lichten. Am unteren Ende sind sie 1 cm hoch konisch geschliffen und blank poliert zwecks Erleichterung der Aufnahme des die Mikroorganismen einer Probe enthaltenden Tropfens vom Rande der paraffinierten Präzipitierröhrchen. Durch einfaches Beruhren des Tropfens mit den Dosierröhrchen und entsprechendes Neigen wird dieser, dank der Kapillarkraft, quantitativ in die Dosierröhrchen übergeführt. Im Anschluß daran wird an die Öffnung des Dosierröhrchens mittels eines Glasstabes ein Tröpfchen Eugenol gebracht und dieses ungefähr 1 cm weit in das Röhrchen einlaufen gelassen, so daß sich unter der Flüssigkeitssäule mit den suspendierten Mikroorganismen eine Eugenolflüssigkeitssäule befindet (s. Abb.).

Der Zweck dieser Manipulation, die einfach und rasch durchführbar ist, liegt in verschiedenen sich daraus ergebenden Vorteilen. Vor allem erhält man dadurch dank der Unlöslichkeit des Eugenols in Wasser und seines spezifischen Gewichtes von 1,027 einen ebenen, glatten Grenzspiegel zwischen den beiden Flüssigkeitssäulen, auf den sich die Mikroorganismen nach dem Zentrifugieren absetzen, wodurch das Sediment scharf abgegrenzt erscheint, was für die Genauigkeit der Ablesung der Niederschlagshöhe von großer Bedeu-

tung ist. Weiter können Ablesungen auch bei ganz geringen Niederschlägen vorgenommen werden, was bei gewöhnlichen Präzipitometern mit rund zugeschmolzenem Ende nicht möglich ist, da Werte, die unter dem ersten Gradationsstrich liegen, nur abgeschätzt werden können.

Die Dosierröhrchen werden mit einem schmalen Gummiband, das für Eugenol fast undurchlässig ist, abgeschlossen. Eine Durchdiffundierung konnte bei Eugenol überhaupt nur nach 24 Std. in Spuren festgestellt werden, während andere Flüssigkeiten mit einem spezifischen Gewicht über 1, wie Tetrachlorkohlenstoff, verschiedene ätherische Öle u. a. bereits während des Zentrifugierens merklich durchdiffundieren oder Gummi gar lösen. Auch besitzen diese Flüssigkeiten gegenüber Eugenol noch den Nachteil, daß sie bei Überschichtung mit Wasser infolge ihres sehr hohen Brechungsexponentes nicht eine dünne, helle Berührungslinie zeigen, sondern eine dicke, dunkle Linie, was die Ablesung beeinträchtigt. Der Verschluß mittels Eugenol und Gummi gewährleistet weiter eine überaus leichte Reinigung der Dosierröhrchen, was bei zugeschmolzenen Präzipitometern oft recht schwierig ist. Die Dosierröhrchen werden mit einer an einem Roßhaar befestigten kleinen Klammer senkrecht aufgehangen, wobei ein unnötig langes Pendeln durch eine einfache Bremsvorrichtung auf ein Minimum abgekürzt wird. Als Widerstandsmedium dient Quecksilber, wovon sich einige Kubikzentimeter in einem Porzellanschälchen unter dem Dosierröhrchen befinden und in welches dieses 1—2 mm tief hineinhängt. Die Beleuchtung des Objektes wird am besten durch eine Mikroskopierlampe, die in einem Holzkasten mit vorgeschaltetem Wasserfilter eingebaut ist, vorgenommen. Die ganze Apparatur wird zweckmäßig auf einem stabilen Wandtisch, wie er bei analytischen Waagen zur Anwendung kommt, aufgebaut, um Erschütterungen und somit auch die minimalsten Schwingungen der Dosierröhrchen auszuschalten. Die kräftige Durchleuchtung des Objektes ermöglicht es, den Berührungsspiegel zwischen Mikroorganismen-Sediment und Eugenol und zwischen Niederschlag und der überstehenden Suspensionsflüssigkeit auf Ebenheit, die Suspensionsflüssigkeit auf quantitative Sedimentierung sowie den Niederschlag auf fehlerlose Schichtung zu kontrollieren. Praktisch genommen wird den Dosierröhrchen wohl immer eine senkrechte Lage gegeben werden, größere Abweichungen von der Senkrechten werden übrigens im Mikroskop sofort erkannt. Wie wenig eine nicht exakt senkrechte Lage der Dosierröhrchen die Richtigkeit der tatsächlichen Niederschlagshöhe bei der Ablesung beeinflußt, geht aus der mathematischen Überlegung hervor, daß bei dem gegebenen Verhältnis zwischen Objekt und Entfernung des Okularmikrometers vom Objekt und bei dem minimalen Abweichungswinkel der Dosierröhrchen von der Senkrechten praktisch genommen die Horizontalprojektion der Sedimenthöhe mit deren wahrer Länge zusammenfällt. Eine diesbezügliche Fehlerquelle ist demnach vollkommen außer acht zu lassen.

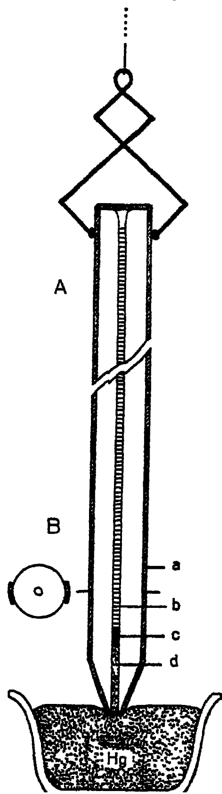


Abb. 1. A. Dosierröhrchen im Längsschnitt: a Gummiband, b Suspensionsflüssigkeit, c Mikroorganismensediment, d Eugenol. B. Dosierröhrchen im Querschnitt.

Wenn beim Zentrifugieren der Präzipitierröhrchen nur auf quantitative Sedimentierung der suspendierten Mikroorganismen geachtet werden muß und ein Überzentrifugieren, was Dauer und Umdrehungsgeschwindigkeit anbetrifft, hier nicht nachteilig ins Gewicht fällt, muß beim Zentrifugieren der Dosierröhrchen eine gewisse Vorsicht beachtet werden. Ein zu langes Zentrifugieren kann sich hier bezüglich Genauigkeit der Ablesung oft unangenehm auswirken. In Vergleichsversuchen beobachtete ich, daß Mikroorganismenniederschläge, die 10 Min. hindurch bei 1000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert waren, durch weiteres Zentrifugieren und Steigerung

der Zentrifugiergeschwindigkeit wohl verdichtet werden können, die Konstanz ihrer Höhe darunter jedoch ungemein leidet. In solchen, eine Stunde lang bei einer Umdrehungsgeschwindigkeit von 2500 Touren pro Minute zentrifugierten Proben mit äußerst komprimierten Niederschlägen nahm die Niederschlagshöhe nach Einstellen des Zentrifugierens in Form einer kubischen Parabel zu. Um solche aus dem Ausdehnungsbestreben eines jeden übermäßig zentrifugierten, komprimierbaren Niederschlages entstehende Differenzen auszuschalten, die ganz besonders im Anfang gleich nach Aufhören der Zentrifugalkraftwirkung recht groß sind, ist es empfehlenswert, Ablesungen solcher Niederschläge nicht sofort nach dem Zentrifugieren, sondern erst nach einer gewissen Zeit vorzunehmen, bis diese Tendenz der Sedimentpartikelchen beendet bzw. soweit fortgeschritten ist, daß die schon auf dem assymptotischen Teil der Kurve liegenden Werte vernachlässigt werden können. Allenfalls ist ein zu langes und kräftiges Zentrifugieren der Dosierröhrchen zu vermeiden. Es stellte sich heraus, daß in Proben mit gleichen Mikroorganismen, jedoch mit doppelter Suspensionskonzentration, die Niederschlagshöhe nach dem Zentrifugieren nicht genau doppelt so groß war wie in Proben mit einfacher Suspensionskonzentration. Dieses traf ganz besonders bei voluminösen Mikroorganismen zu und bei Verwendung hoher Umdrehungsgeschwindigkeiten beim Zentrifugieren. Die Tatsache ist dadurch erklärlich, daß in diesen Niederschlägen mit relativ großen Zwischenräumen unter den Sedimentpartikelchen der Komprimierkoeffizient ein relativ größerer ist als bei Niederschlägen kleinerer Mikroorganismen, die verhältnismäßig dicht aneinander schließen. So stellten sich bei Stichococcus minor-Reinkulturen mit doppelter Suspensionskonzentration Unterschiede ein, die nur 2,1% unter der doppelten Niederschlagshöhe einfach konzentrierter Suspensionen standen, bei 5fachem Konzentrationsunterschied stieg der Unterschied schon auf 10,6%, bei großen Mikroorganismen wie Protococcus viridis fand ich als entsprechende Unterschiede 3,7 und 16,2%. Diese durch die Konzentrationsunterschiede der Suspensionen bedingten Fehler können, wie Versuche zeigten, erheblich herabgedrückt werden bei Beachtung der schon vorher ausgedrückten Forderung, daß Mikroorganismen nur so lange zentrifugiert werden sollen und auch das bei einer möglichst niedrigen Umdrehungsgeschwindigkeit als zu ihrer quantitativen Sedimentierung unbedingt erforderlich ist. Proben von Stichococcus mirabilis-Aufschwemmungen, die 1 Std. lang bei 3000 Umdrehungen pro Min. zentrifugiert wurden und bei doppelter Konzentration in der Niederschlagshöhe Unterschiede von 2,8% aufwiesen, konnten so im Fehlerergebnis auf 0,70% verbessert werden. Bei ganz genauen Untersuchungen ist natürlich auch dieser Fehler unerwünscht und dann ist als letzte Möglichkeit, diese Fehlerquelle überhaupt auszuschalten, noch die Handhabe gegeben, eine jede Probe bzw. eine jede Versuchsserie in einem Vorversuch auf ungefähre Suspensionskonzentration zu prüfen, um dann evtl. größere Unterschiede durch entsprechende Verdünnungen auszugleichen. Diesen Verdünnungen wird selbstredend dann im Endergebnis Rechnung getragen.

Die Angabe des Gesamtkubikinhaltes von Mikroorganismen in einer Kultur, wie dieses durch die Zentrifugiermethoden geschieht, ist der einfachen zahlenmäßigen Angabe der Zählmethoden nicht nur an Genauigkeit, sondern auch an wissenschaftlichem und praktischem Wert weit überlegen, da die Masse der Mikroorganismen nicht bloß eine Funktion der

Anzahl, sondern auch ihrer Größe ist. Da nur die Zentrifugiermethode die Hauptfaktoren des Massenausdruckes. Anzahl und Größe der Mikroorganismen gleichzeitig berücksichtigt, wird erst durch das Ergebnis dieser Methode eine richtige Beurteilung der verschiedenen Funktionen bei Mikroorganismen ermöglicht, da letzten Endes diese doch eine direkte Funktion der tatsächlichen Protoplasmamenge sind und nur in zweiter Reihe von der Zahl abhängen, auf die sich diese Protoplasmamenge verteilt. Beurteilungen von physiologischen Prozessen bei Mikroorganismen, die sich nur auf zahlenmäßiger Angabe dieser in einer Kultur stützen, können ganz besonders in Vergleichsversuchen mit anderen, morphologisch verschiedenen Mikroorganismen infolge Nichtberücksichtigung der Mikroorganismengröße zu großen Fehlschlüssen führen.

Um die Anzahl der auf einen Teilstrich des Okularmikrometers kommenden Mikroorganismen bei der Sedimentablesung zu bestimmen, verwendet man oft durchgezählte, zahlenmäßig genau bestimmte Aufschwemmungen der betreffenden Mikroorganismen. Es ist von großer Wichtigkeit, dazu frische und unter möglichst normalen Bedingungen gezüchtete Reinkulturen zu verwenden unter genauester Berücksichtigung der morphologischen Größenmaße sowie etwaiger morphologischer Eigentümlichkeiten, die sich auf die Sedimentierung auswirken könnten. Bei allen quantitativen Bestimmungen desselben Mikroorganismus werden dann nur noch die morphologischen Größenmaße kontrolliert und der Gesamtkubikinhalt der betreffenden Probe, der selbstredend auch als solcher allein verwendbar ist, kann sofort durch eine einfache Proportionalrechnung auf die Zellenzahl umgerechnet werden.

Der Zuverlässigkeits- und Genauigkeitsgrad der Methode wurden in der Art bestimmt, daß verschiedenen Mikroorganismen-Reinkulturen mehrmals je 16 Proben entnommen und deren Gesamtkubikinhalt an Mikroorganismen bestimmt wurde. Es wurde darauf geachtet, die Konzentration der Mikroorganismenaufschwemmungen in möglichst normalen Grenzen zu halten, so daß 2 ccm Suspension ungefähr 0,5—1 mm Sediment im Dosierröhrchen entsprachen. Bei der Probenentnahme wurde auf vollkommene Homogenität der Aufschwemmung durch ausgiebiges Schütteln und nachträgliches Filtrieren dieser durch lockere Watte, bei Vermeidung jeder Fremdinfektion, Gewicht gelegt. Nach den Gaußschen Formeln ergab sich bei der Genauigkeitsberechnung der Methode als mittlerer Fehler des Gesamtergebnisses 0,85% und als wahrscheinlicher Fehler 0,57% bei der quantitativen Bestimmung morphologisch günstiger Mikroorganismen. Bei Saccharomyces cerevisiae wurde die Fehlergrenze dieser quantitativen Bestimmungsmethode auch noch auf physiologischem Wege kontrolliert durch Bestimmung der Kohlensäureentwicklung in der Zeiteinheit der verwendeten Proben mittels Reimeschschem Gärungssaccharometer (15), wobei die Unterschiede in den Einzelproben in den Bereich der dieser Kohlensäure-Dosierungsmethode eigenen geringen Fehlergrenze fielen.

Zum Schlusse danke ich Herrn Prof. J. Grintzesco für die Förderung dieser Arbeit.

Zusammenfassung.

Von sämtlichen bisher verwendeten Methoden zur quantitativen Bestimmung von Mikroorganismen eignet sich am besten die Zentrifugiermethode zum Ausbau einer allgemeinen diesbezüglichen Methode. Die bei der

Zentrifugiermethode so störend wirkende trichterförmige Übergangsstelle der Präzipitometer wurde durch Verwendung von Dosierröhrchen mit nur parallelen Wänden und durch Trennung der Dosierung von der Sedimentierung behoben. Das Mikroorganismensediment wird auf einen geraden, ebenen Flüssigkeitsspiegel abgesetzt und die Niederschlagshöhe in den ungradierten Dosierröhrchen mit Horizontalmikroskop und Okularmikrometer abgelesen. Die Methode eignet sich zur quantitativen Bestimmung aller Mikroorganismen, ist einfach und schnell durchführbar und gewährleistet durch ihre geringe Fehlergrenze ein Höchstmaß von Genauigkeit.

Literatur.

1. Lindner, P., Mikroskopische Betriebskontrolle. Berlin 1909. S. 204. — 2. Svanberg, O., Ztschr. f. techn. Biologie. Bd. 8. 1920. S. 7. — 3. Naumann, H., Ibid. Bd. 7. 1919. S. 9 ff. — 4. Lindner, P., Methoden der Bestimmung der Hefezellvermehrung. (Handb. d. biolog. Arbeitsmeth. Abderh. Abt. XII. Teil 1. S. 282.) — 5. Lafar, Handb. d. techn. Mykologie. Bd. 1. S. 567. — 6. Aumann, H., Die direkte Zählung der Wasserbakterien mit der Ultramikroskopie. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 33. 1912. S. 624.) — 7. Carlson, T., Biochem. Ztschr. Bd. 57. 1913. S. 313. — 8. Cardot et Richet, Ann. Inst. Pasteur. T. 33. 1919. p. 575. — 9. Schweitzer, K., Physiologisch-chemische Studien an der Hefezelle. (Mitteil. a. d. Geb. d. Lebensmitteluntersuch. u. Hygiene. Eidgenoss. Gesundheitsamt, Bern. Bd. 11. S. 199. 1920.) — 10. Krueger, A method for the quant. estim. of bact. in suspens. (Journ. gener. Physiol. Vol. 13. 1930. p. 553 ff.) — 11. Lindner, P., Handb. d. biolog. Arbeitsmeth. Abderh. Abt. XII. Teil I. S. 280. — 12. Gorr, P., und Perlmann, G., Über die Einwirkung des Sauerstoffs auf den Verlauf der alkoholischen Zuckerspaltung. (Biochem. Ztschr. Bd. 174. 1926. S. 425 ff.); Nathan, L., und Fuchs, W., Ztschr. f. d. gesamte Brauwesen. Bd. 29. 1906. S. 1 ff.; Rahn, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 32. 1912. S. 376 ff. — 13. Reimesch, E., Die Bedeutung der Hefeverteilung im Nährmedium für den Garungsverlauf. (Ibid. Bd. 90. 1934. S. 218 ff.) — 14. Ludwig, O., Über den Wachstumsverlauf von Hefe in Würze. (Biochem. Ztschr. Bd. 167. 1926. S. 388.) — 15. Reimesch, E., Ein neuer Gärungssaccharometer. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 88. 1933. S. 307 ff.)

Zur Frage der Zersetzung der Pentosane und der Pentosen durch Mikroorganismen.

Von **L. M. Horowitz-Wlassowa** und **N. W. Novotelnow** (Leningrad).

Die Frage der Wirkung der Mikroorganismen auf Pentosane wurde in der Literatur kaum berührt, obgleich sie, wegen der großen Verbreitung der Pentosane in der pflanzlichen Welt, eine ebenso große praktische wie theoretische Bedeutung hat — theoretisch soll sie unsere Kenntnisse über die Umwandlungen des Kohlenstoffes ergänzen, praktisch dürften diese Stoffe schon wegen ihrer riesengroßen Reserven in der Natur im Falle ihrer industriellen Verwertung von Wichtigkeit sein.

In der Tab. 1 haben wir einige Angaben über den Gehalt an Pentosanen in verschiedenen Pflanzen und Pflanzenteilen vereinigt.

Als Pentosane werden bekanntlich höhere Kohlenwasserstoffe bezeichnet, die durch die Fähigkeit, bei der Hydrolyse Pentosen zu bilden, charakterisiert sind. Es sind amorphe, hochmolekulare Stoffe (mit unbekanntem Molekulargewicht); ihre empirische Formel ist $C_2H_8O_4$. Die

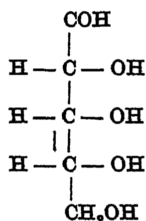
Vorgänge der Azetylierung und der Nitrierung sollen zeigen. daß sie Hydroxyl-Gruppen enthalten; Aldehyd-Gruppen dagegen fehlen (keine reduzierenden Eigenschaften!). Pentosane sind in Alkalien löslich und werden aus den Lösungen mit Alkohol, mit Salzen der Schwermetalle, auch mit dem Reagens von Fehling gefällt. Im letzteren Falle entsteht aus dem Pentosan, Kupfer und Alkali eine neue Verbindung, die sich im Überschuß des Reagenses wieder löst. Einige Forscher (Heuser) sind der Meinung, daß Pentosane in Pflanzen sich aus der Zellulose bilden, andere (Tollens) haben ihre Bildung aus der Stärke beobachtet. Pentosane sind häufig in sog. Hemizellulosen vorhanden, die nach Heuser nichts anderes als ein Gemisch von depolymerisierter Zellulose, Pentosanen und Hexosanen sind; sie wurden auch in Pektinen gefunden (komplexe Stoffe, die auch in die Gruppe der Furfuroïde gehören, d. h. Furfurol bei der Hydrolyse ergeben). Am meisten sind 2 Pentosane-Arten in der Außenwelt verbreitet, nämlich Araban und Xylan.

Tabelle 1.

Pflanzen-material	Gehalt an Pentosan. in %	Namen der Untersucher	Pflanzen-material	Gehalt an Pentosan. in %	Namen der Untersucher
1. Tanne	9,93	Schorighin	10. Kleie d. Baumwollsamen . .	30—33	Mackley
2. Fichte	5,26		11. Erdnuß-Preßkuchen . . .	17	
3. Eiche	23,7		12. Moosbeeren-Preßrückstand.	3,1	Nowotelnow
4. Birke	23,6		13. Hüls. v. Sonnenblumensamen	19,38 26,55	Nowotelnow Ssadikow
5. Buche	27,0		14. Algen	7,96	Nowotelnow
6. Weizenstroh .			15. Torf	2,13	
7. Roggenstroh .	26,0		16. Humus . . .	5,15	
8. Haferspreu .	32—35		17. Braun-Kohl .	0,3—0,4	
9. Grün-Mais . .	12	Harding			

Xylan ist ein weißes Pulver, das im Wasser eine opaleszierende Lösung mit dem Drehungsvermögen l 70—90° ergibt, für Araban ist der entsprechende Wert 83°.

Bei der Hydrolyse durch Säuren entsteht aus Xylan bis 35% l-Xylose. l-Xylose (Brutto-Formel $C_5H_{10}O_5$) ist eine Aldopentose mit der folgenden Konfigurationsformel:

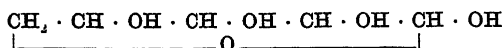


Sie kristallisiert in Prismen, deren Schmelzpunkt 143° beträgt; sie ist süßlich, wasserlöslich, rechtsdrehend. Beim Reduzieren ergibt sie den Alkohol-Xylit, bei der Oxydation anfangs die Xylonsäure (die sich von der Xylose durch eine Karboxylgruppe an Stelle einer Aldehydgruppe unter-

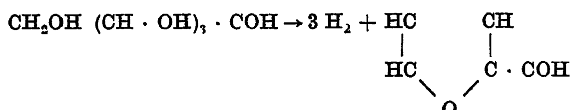
scheidet); später bildet sich die Trioxyglutarsäure, die noch eine Karboxylgruppe an Stelle der zweiten Aldehydgruppe besitzt.

l-Arabinose, die sich bei der Hydrolyse des Arabans bildet, ist isomer der l-Xylose, ihr Schmelzpunkt ist 160°, sie ist wasserlöslich, rechtsdrehend, und hat ebenfalls süßen Geschmack. Ihre Konfigurationsformel unterscheidet sich von der der l-Xylose dadurch, daß die mit dem vierten C verbundene OH-Gruppe nicht rechts, sondern links liegt. Andere Pentosane, die seltener in der Natur vorkommen, lassen wir hier beiseite.

Es sei hier bemerkt, daß die Konfigurationsformel der Pentosen (nach Tollens) folgendermaßen geschrieben werden soll:



Bei Xylose und Arabinose fallen alle Reaktionen, die den Hexosen eigen sind, positiv aus, wie die Reaktionen von Fehling, Nyländer, Molisch, Fischer u. a.; dabei auch einige Reaktionen, die mit Hexosen negativ ausfallen, wie die Bildung des Furfurols bei der Hydrolyse mit HCl; diese letztere Reaktion verläuft nach der folgenden Gleichung:



Furfurol (oder Furol oder Furolaldehyd) ist eine farblose Flüssigkeit, die bei 162° siedet und einen angenehmen, dem Roggenbrot ähnlichen Geruch hat; sie gibt alle typischen Aldehydreaktionen (Reaktion von Schiff oder Fellenberg, die Reaktion von Fehling, sogar ohne Erwärmen u. a.). Dieser Stoff wird auch durch die Eigenschaft gekennzeichnet, mit Phlorogluzin einen roten Niederschlag zu bilden — eine Eigenschaft, auf welcher die quantitative Pentosenbestimmung nach Tollens beruht: Furfurol wird abdestilliert und im Destillate durch Phlorogluzin-Salzsäure gefällt; der ausgewaschene und getrocknete Niederschlag wird gewogen; spezielle Tabellen ermöglichen, das Gewicht der Arabinose oder der Xylose aus den erhaltenen Werten zu berechnen.

Für den Nachweis des Furfurols empfiehlt es sich auch, das Destillat mit dem Essigsäureanilin zu versetzen; ist Furfurol vorhanden, so färbt sich die Flüssigkeit hellrot; das mit dem Essigsäureanilin befeuchtete Papier erlaubt also zu kontrollieren, ob die Destillation des Furfurols zu Ende ist. Diese letztere Reaktion kann auch zur quantitativen Bestimmung angewendet werden. P. und Z. Ssilin (1) namentlich haben vorgeschlagen, die Menge der Pentosane kolorimetrisch nach der Furfurolmenge zu bestimmen. Dazu wird die Skala aus dem frisch abdestillierten Furfurol mit dem Gehalt von 0,4—0,004 g dieses Stoffes in 5 ccm Wasser angefertigt; dann werden in alle Röhrchen der Skala, ebenso wie in Röhrchen mit 5 ccm verschiedener Verdünnungen des zu prüfenden Destillates 4,5 ccm der Lösung des Essigsäureanilins eingeführt; nach 10 Min. (Aufbewahren im Dunkeln!) werden die Resultate beobachtet. Der erhaltene Wert wird mit 1,375 multipliziert (Verhältnis des Molekulargewichts der Pentosane zu dem des Furfurols), unter Berücksichtigung der Tatsache, daß die Ausbeute des Furfurols ca. 79,4% der theoretischen Menge beträgt.

Diese Methode beruht auf demselben Prinzip wie die von Tolman, die aber nach Angaben von Ssadikow (3), der sie nachgeprüft hat,

nicht als genau angesehen werden darf, da sie im allgemeinen niedrigere Werte als die Methoden von Tollens, Kullgren, Tyden ergibt. Wir müssen dieser Meinung beistimmen, da wir bei den Parallel-Bestimmungen nach Tollens und nach Ssilin im letzteren Falle stets Werte erhielten, die um 2,5% und mehr niedriger waren als im ersteren.

Unter anderen Reaktionen, die für Pentosen typisch sind, soll auch die Reaktion von Bial genannt werden: Grünfärbung beim Kochen pentosenhaltiger Lösungen mit der Lösung von Orzin und $FeCl_3$ in HCl.

Die Frage der Ausnutzung pentosanreicher Rohstoffe auf biochemischem Wege, d. h. durch die Tätigkeit der Mikroben, ist in der Literatur wenig gewürdigt. In älteren Arbeiten von Hoppe-Seyler, Omelianski, Herbert liegen spärliche Erwähnungen über die Methangärung des Baumgummis und des Strohes vor; im letzteren Falle handelt es sich um die thermophile Mikroflora des Mistes, die während 3 Monaten die Zerlegung von 5,33 g aus insgesamt 10 g Xylan bewirkt hat.

In den meisten Handbüchern finden wir nur kurze Bemerkungen, daß Pentosane gegen die Angriffe durch Mikroben sehr widerstandsfähig sind. Die Frage der Wirkung der Mikroben auf Pentosane ist insbesondere für das Problem der Umwandlungen des C in der Natur wichtig: was industrielle Zwecke anbetrifft, so lassen sich Pentosane leicht mittels Hydrolyse mit Säuren in Pentosen überführen, die viel leichter als Pentosane vergärt werden können. Es sei hier darauf hingewiesen, daß die Möglichkeit, die alkoholische Gärung der Pentosen hervorzurufen, in der Literatur mehrmals bestritten wurde. In einer alten Arbeit von Grass, Beran und Smith (4) finden wir die Behauptung, daß bei der nicht ausreichenden Ernährung bis 75% von vorhandenen Pentosen vergärt werden können. Anderson (5) hat über die Gewinnung von Alkohol aus Xylose durch die Tätigkeit von Fusarium lini berichtet. M. G. White und Willaman (6) haben bei der Züchtung dieser Art in einem mineralischen Nährmedium (0,25% $MgSO_4$, 0,5% KH_2PO_4, 1% NH_4NO_3) mit 4% Pentose die Bildung von Alkohol konstatiert, dessen Menge bis 9,9% der Menge der zugesetzten Arabinose erreichte; für die Xylose stieg der entsprechende Wert bis 44,5%. Abbot (7) hat 1926 über die Zerlegung der Arabinose durch Saccharomyces ellipsoïdeus, S. cerevisiae, S. apiculatus berichtet. Delaphine G. Rose, S. B. Fred und W. H. Peterson (8) konnten bei der Züchtung verschiedener Hefen und Schimmelpilze (Torula, Mycoderma, Dematium, Monilia, Endomyces) im Hefewasser mit Zusatz von Xylose oder Arabinose die Gärung unter Bildung von Alkohol und CO_2 beobachten. — Endomyces und Torula zerlegten in diesen Versuchen 39 bis 58% Xylose, ohne Arabinose zu vergären; einige Arten, wie Mycoderma, Monilia, Dematium, zerlegten 66—98% beider Pentosen; die Ausbeute an Alkohol aber stieg dabei nicht über 10% (für die Glukose beträgt der entsprechende Wert 25—40%).

Plewako und Altowskaïa (8) berichten über die Alkoholgärung der Xylose durch Oospora 208, die sie aus den Algen von Murmansk gezüchtet hatten in einem, nach Entfernung der Stärke und des Zuckers brauchbarem Hefewasser mit Zusatz von Xylose — die Ausbeute von Alkohol betrug ca. 10% des Gewichtes der Xylose. 1926 wurde die Frage der Gärung der Pentosen durch die Tätigkeit von Saccharomyces cerevisiae nochmals von Castellani und Taylor (10) gewürdigt.

Gottschalk (11) meint, daß die Hefen nicht imstande seien, Pentosen zu vergären und spricht den beobachteten Effekt dem B. coli zu, der häufig die Präparate künstlicher Hefen verunreinigt. Überhaupt herrscht die Ansicht vor, daß die üblichen Erreger der Alkoholgärung Pentosen nicht vergären; so ist z. B. im Handbuch von Kruse („Allgemeine Mikrobiologie", S. 250) kurz gesagt: „Pentosen sind nicht gärfähig"; dasselbe finden wir in einer Anzahl von Leitfäden der organischen Chemie [Reformatski, S. 241 (russisch); Tchitchibabin, S. 300 (russisch) u. a.]. — Was nun andere Arten der Gärung anbetrifft, so finden wir in der Literatur zahlreiche Hinweise auf die Fähigkeit verschiedener Bakteriengruppen (Coli-Aerogenes, Milchsäurebildner, Essig- und Buttersäurebakterien), die Pentosen zu vergären. Jedenfalls soll diese Fähigkeit in der Bakterienwelt viel seltener sein als die Fähigkeit, Gärung der Hexosen hervorzurufen. Aus der alten Literatur müssen die Angaben von Grimbert (12) berücksichtigt werden, der in Kulturen des B. pneumoniae im xylosehaltigen Nährmedium bis 0,9% Alkohol, 23,4% Essigsäure, 19,9% Bernsteinsäure und Spuren von Milchsäure erhalten hat. Aus der Arabinose bildete diese Art bis 49,9% Milchsäure und 36,1% Essigsäure.

Es liegen in der Literatur weiter Hinweise vor, daß die Eigenschaft, Pentosen zu vergären, auch den Milchsäurebildnern, wie Str. lacticus, Str. pyogenes, zukomme (zitiert nach Kolle); dasselbe soll auch für B. coli und B. typhi zutreffen (Seguin, Jensen, zitiert nach Kruse, S. 174). Nach Schattenfroh und Grassberger werden die Pentosen durch Clostridium butyricum anaerob vergoren unter Bildung von Buttersäure, CO_2, H_2, Spuren von Ethyl- und Butylalkohol, Propion- und Ameisensäure.

1930 haben M. Foote, E. B. Fred und W. H. Peterson (13) in ihren Untersuchungen mit 20 Stämmen der Propionsäurebakterien, die von Freudenreich, Orla-Jensen und Troili-Peterson gezüchtet worden, waren, konstatiert, daß 13, darunter die Arabinose, die Xylose, unter Bildung flüchtiger (Essig-, Propionsäure) und nichtflüchtiger (Milch-, Bernsteinsäure) Produkte vergärten. Bendix (14) berichtet 1900 über Bakterien aus Exkrementen des Menschen und der Kuh, die die Xylose vergären. Emmerling (15) will die Fähigkeit, die Arabinose unter Säurebildung zu vergären, beim B. mycoïdes beobachtet haben. Foote, Peterson und Fred haben die Vergärung der Xylose in Kulturen von Knöllchenbakterien beobachtet; Fred, Peterson, Davenport (16, 17) in Kulturen von Mistbakterien; als Gärungsprodukte wurden Milch-, Essigsäure, CO_2 und Alkohol in Spuren genannt. 1933 haben Fred, Peterson und Anderson (18) eine Anzahl von Laktobazillen beschrieben, die die Xylose vergären; die beiden ersten Verff. haben sich sogar ihr Verfahren (Vergärung der Pentosen durch B. pentacetici) patentieren lassen.

Experimentelles.

Für unsere Versuche haben wir 2 Arten von pentosanreichen Stoffen benutzt, die zweifelsohne ein beträchtliches Interesse für unsere Industrie haben, da sie sich in großen Mengen in Ölmühlen ansammeln: die Hülsen der Sonnenblumensamen und die des Baumwollsamen.

In unseren Untersuchungen bemühten wir uns, folgende Fragen experimentell zu beantworten: 1. Wie soll die Hydrolyse unserer Rohstoffe ausgeführt werden, um die normale Ausbeute der Pentosen zu sichern? 2. Wie

geht die Vermehrung unserer Gärungserreger in diesen Hydrolysaten vor sich? 3. Welche Gärungsvorgänge verlaufen dabei? 4. Ist es möglich, die Hydrolyse durch Säuren durch die Mikrobentätigkeit zu ersetzen? Da wir in beiden Fällen mit Pentosen zu tun haben, die ihrerseits vergärt werden sollen, war es nötig, zu erörtern, welche Mikrobenarten diese letztere Aufgabe am besten erfüllen können; um diese letztere Frage zu beantworten, haben wir 27 Arten geprüft. — 6 Hefenarten, namentlich Torula, Saccharomyces cerevisiae, S. cerevisiae acidophilus, S. oxycocci, Hefe Enza, ferner 12 Bakterienarten: B. lactis aerogenes, B. cloacae, B. proteus vulgaris, B. viscosus sacchari, B. prodigiosus, B. esterificans. Clostridium butyricum, Pectinobakter amylophilus (Makrinow), B. implexus, 3 Milchsäurebildner: B. Leichmanni, B. Delbrücki, Lactobacillus sporogenes n. sp., ferner B. acetosus und 5 Schimmelpilzarten: Monilia, Dematium, Penicillium, Aspergillus niger, A. oryzae. Pentosen (Arabinose oder Xylose) wurden zum mineralischen Nährmedium (0,2% KH_2PO_4, 0,1% NH_4Cl, 0,005% $MgSO_4$) oder zur 25 proz. Fleischpeptonbouillon zugesetzt. Der ph des Nährmediums betrug 6,5—7,0 für die Aerobakter-Gruppe, 6,0 für Hefen und Schimmelpilze, 5,0 für Milchsäurebildner.

Für alle Hefearten blieb die Gasbildung während einer Beobachtungszeit von 7 Tagen aus, und zwar fand auch im mineralischen Nährmedium die Entwicklung statt. Die Resultate fielen auch für die Milchsäurebildner und den Pectinobakter amylophilum negativ aus. In den Kulturen von B. lactis aerogenes, Clostridium butyricum, B. esterificans und — in schwächerem Grade — von B. cloacae, Proteus vulgaris und B. viscosus sacchari kam dagegen die Gasbildung schon nach 1—2 Tagen zur Beobachtung. Was die Schimmelpilze anbetrifft, so vermehrten sich alle genannten Arten im mineralischen Nährmedium mit 1% Xylose recht üppig; einige, darunter Aspergillus oryzae, Penicillium glaucum, Monilia, bewirkten während der 7 Tage die völlige Zerstörung der vorhandenen Xylose.

Wir haben für eingehendere Versuche mit unseren Hydrolysaten 2 Arten gewählt, nämlich den B. lactis aerogenes, als Bildner der Milch- und der Essigsäure und den B. esterificans, den wir aus dem Boden reingezüchtet hatten und dessen Kulturen in unseren Nährsubstraten mit Xylose einen starken Ananasgeruch aufwiesen. Was nun den B. implexus betrifft, den wir (Horowitz-Wlassowa und Rodionowa, Über die Azetoingärung. Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 87. 1933) als den Erreger der Azetoïngärung in den Kartoffelnährmedien benutzt hatten, so gab diese Art die Reaktion von Voges-Proscauer in Bouillon mit Arabinose erst nach 2 Wochen: in den Kulturen dieser Art in Nährmedien mit Xylose blieb sie wochenlang negativ; es folgt daraus, daß Pentosen für die Azetoïngärung kaum zuverlässig sind.

Versuche mit Baumwollsamen-Hydrolysaten.

Die Methodik der Bearbeitung der Baumwollsamen in Amerika, wo jährlich Xylose aus 1—1,5 Mill. t dieses Stoffes gewonnen wird, ist die folgende: Der Samen (der aus dem Kern und der behaarten Schale besteht)

wird mittels Maschinen in Kern und Schale getrennt und die Härchen werden entfernt. Der Rest enthält nach Mackley 30—35% Pentosane. ist also an diesen Stoffen reicher als jeder andere bis jetzt untersuchte pflanzliche Stoff. Im Laboratorium müßten wir an Stelle der maschinellen Bearbeitung die Verreibung im Mörser und das Durchsieben anwenden; auf die Entfernung der Härchen mußten wir, wegen deren Schwierigkeit. verzichten. Die Hydrolyse des auf diese Weise vorbereiteten Samens wurde nach der amerikanischen Methode ausgeführt: die Maische wurde halbstundenlang mit der n 2 H_2SO_4 zwecks Auswaschens der Salze bearbeitet, dann mit fließendem, kaltem Wasser gewaschen, schließlich mit 2% H_2SO_4 gekocht. Um den optimalen Zeitraum für die Hydrolyse (d. h. den Zeitraum, der die stärkste Ausbeute an Pentosen ermöglicht) zu bestimmen. haben wir eine Anzahl von Versuchen (2, 4. 8, 12 Std. langes Kochen der Pentosenlösung mit 2% H_2SO_4) angestellt; es war nötig zu erörtern, wie rasch bei der Hydrolyse die Zerstörung der neugebildeten Pentose selbst vor sich geht. Es erwies sich tatsächlich, daß beim Kochen der 5 proz. Xyloselösung mit der 2 proz. H_2SO_4, die Menge der zerstörten Xylose nach 8 Std. 1,27% der ursprünglichen Menge betrug; nach 12 Std. stieg sie bis 9,6%. Die farblose Lösung wurde dabei braun und schied einen grobflockigen, braunschwärzlichen Niederschlag aus, der folgende Eigenschaften besaß: er löste sich in Alkalien, wurde aus alkalischen Lösungen durch starke Säuren gefällt, gab die Reaktion von Fehling, sogar nach dem 2 Std. langen Kochen mit der 2proz. H_2SO_4 nicht; die Furfurolreaktionen mit dem Essigsäure-Anilin, auch mit Phlorogluzin fielen ebenfalls negativ aus. Es geht daraus hervor, daß der neugebildete Stoff sich beträchtlich von der Xylose sowohl wie vom Furfurol unterscheidet; es ist wahrscheinlich, daß er infolge der Gegenwirkung der Xylose selbst und des sich bei der Hydrolyse bildenden Furfurols entsteht (nach 8 Std. beträgt die Menge von Furfurol 144 mg, nach 12 Std. 409 mg). Diese Vermutung scheint durch unsere Versuche gestützt zu werden, wo Xyloselösung mit der 2proz. H_2SO_4 unter Zusatz von Furfurol gekocht wurde; der Ausfall des Niederschlages mit den obigen Eigenschaften begann schon nach 1 Std., während er in der Probe ohne Zusatz von Furfurol erst nach 6 Std. — augenscheinlich als die Menge des abgespalteten Furfurols sich als ausreichend erwies — zur Beobachtung kam. Die nach Bertrand bestimmte Xylosemenge im 8 stünd. Hydrolysate der Baumwollsamen betrug 10,48%, im 12stünd. Hydrolysate nur 9,96%; es folgt daraus, daß die Xylose wirklich bei der längeren Hydrolyse zerstört wird, und zwar rascher, als sie sich aus Pentosanen bildet. Da das Furfurol ebenfalls die Reaktion von Fehling gibt, war es erforderlich, Parallelbestimmungen nach Tollens auszuführen, die in 4-, 8-, 12- und 16 stünd. Hydrolysaten 6,4%, 9,16%, 9,52% und 8,95% Pentosen ergaben; da das bei der Hydrolyse neugebildete Furfurol wegen seiner Flüchtigkeit rasch aus der Flüssigkeit entweicht, Pentosane schon nach 8 Std. fehlen (negative Probe mit dem Alkohol!), sind wir berechtigt, diese Werte ausschließlich als Pentosen zu berechnen. Es scheint also, daß die 8 Std. lange Hydrolyse am zweckmäßigsten ist; demgemäß wurden in allen späteren Versuchen Baumwollsamen während 8 Std. hydrolysiert. Für Versuche wurden Hydrolysate mit 25 g Baumwollsamen in 100 ccm Wasser mit Zusatz von 0,5% NH_4PO_3 genommen und anfangs auf die spontane Gärung (resp. Vorhandensein entsprechender Erreger) geprüft; da sie nicht eintrat, wurden sie nach der Sterilisation mit dem B. lactis aero-

genes, ein anderer Teil mit B. esterificans geimpft. Die Entwicklung, insbesondere in zweifach verdünnten Hydrolysaten, war recht gut; der Zusatz von $(NH)_4PO_3$ förderte das Wachstum in nicht unbeträchtlichem Maße. Um die Frage über das evtl. Vorhandensein anderer vergärbarer Stoffe in unseren Hydrolysaten zu lösen, beimpften wir diese mit Hefen (Sacch. Oxycocci), die sich gut darin vermehrten, ohne jedoch Gasbildung hervorzurufen. Wurde 1% Glukose zugesetzt, so trat sofort energische Gärung ein: es ist damit bewiesen, daß Hexosen in unseren Hydrolysaten fehlten; mit anderen Worten, die Gärung verlief auf Kosten der Pentosen allein.

Die Tab. 2 ergibt die Resultate der Versuche mit dem B. lactis aerogenes und B. esterificans in Hydrolysaten der Baumwollsamen. Reinkulturen dieser Arten wurden in dem 2fach verdünnten Hydrolysat mit Zusatz von 0.5% $(NH_4)_4PO_3$ geimpft, und die Kulturen blieben 2 Tage bei 37° stehen. Die sich bildenden Säuren wurden alle 2 Tage mit bestimmten Mengen der sterilen Sodalösung neutralisiert (der Zusatz von $CaCO_3$ ist nicht zu empfehlen, da er die Bestimmung des gesamten Säuregehaltes hindert). Die Zahlen in der Tabelle bezeichnen die Zahl von Kubikzentimetern der n/10 NaOH, die erforderlich sind, um die Säuremenge in 100 ccm der Flüssigkeit zu neutralisieren. Der Gehalt an flüchtigen Säuren wurde nach Duclaux bestimmt, die Natur der Säuren qualitativ nachgewiesen. Nach 7 Tagen wurden die flüchtigen Säuren abdestilliert, und die in der Flüssigkeit gebliebenen Säuren (hauptsächlich Milchsäure) im Schüttelapparat 16 Std. lang mit Äther extrahiert; dann wurde der Äther in dem Scheidetrichter abgetrennt, der Rest mit Wasser versetzt und, nach dem Erwärmen auf dem Wasserbade (um den Äther völlig zu entfernen) mit n/10 NaOH austitriert; die enthaltenen Werte, mit 9 multipliziert, ergaben die Zahl der Milligramm der Milchsäure in 100 ccm. Der Alkohol wurde in einem zweiten Destillat der mit dem Alkali versetzten Flüssigkeit gewonnen und in üblicher Weise bestimmt. Bei den durch die B. lactis aerogenes-Kulturen gebildeten Säuren handelt es sich hauptsächlich um Milch- und Essigsäure; bei den Kulturen des B. esterificans kommt insbesondere die Buttersäure in Betracht.

Tab. 2. Versuch mit Baumwollsamen.

	Säuren	Flüchtige Säuren	Reduzierende Stoffe als Xylose berechnet	Flüchtige Säuren als Essigsäure berechnet in %		Nicht flüchtige Säuren als Milchsäure berechn. i. %		Alkohol in % der Xylose	CO_2 in % der Xylose
				des Trockengewichtes	der Xylose	des Trockengewichtes	der Xylose		
Kontrolle	17,0	—	1,17	—	—	—	—	—	—
Versuch mit B. lactis aerog. .	85,0	60,3	0,08	4,58	30,9	2,19	14.7	—	31
Versuch mit dem B. esterificans	80,6	74,5	0,12	7,03	74,4	—	—	10,2	9,0

In ähnlicher Weise wurden Versuche mit den Hydrolysaten der Hülsen der Helianthussamen angestellt; zuerst wurde ebenfalls die optimale Dauer

der Hydrolyse festgestellt, die auch 8 Std. betrug, wie das aus der Tab. 3 ersichtlich ist; nach 8 Std. geht der Vorgang der Zerstörung der neugebildeten Xylose rascher als ihre Bildung aus dem Pentosan — demgemäß wurden für Gärungsversuche 8 Std.-Hydrolysate verwendet, die ebenso vorbereitet und mit denselben Arten beimpft wurden wie oben.

Tabelle 3.

Dauer der Hydrolyse in Stunden	Zucker nach Bertrand bestimmt und als Xylose berechnet in %	% der Xylose nach Tollens
2	3,11	—
4	6,9	4,7
8	9,5	5,78
12	6,25	5,37

Es geht aus der Tab. 4 hervor, daß: 1. die Gärungsvorgänge, die in Hydrolysaten beider Arten durch B. lactis aerogenes bewirkt werden, untereinander ähnlich sind; 2. es möglich ist, aus Hülsen der Helianthussamen mittels Bakterientätigkeit Milch-, Essig-, Buttersäure und den Alkohol zu gewinnen.

Tab. 4. Versuch mit Sonnenblumensamenschalen.

	Säuren	Flüchtige Säuren	Reduzierende Stoffe als Xylose berechnet	Flüchtige Säuren als Essigsäure berechnet in %		Nicht flüchtige Sauren in % berechnet		Alkohol in % der Xylose	CO_2 in % der Xylose
				des Trockengewichts	der Xylose	des Trockengewichts	der Xylose		
Kontrolle . . .	14,5	—	0,77	—	—	—	—	—	—
Versuch mit dem B. lactis aerog.	73,2	44,4	—	3,02	26,4	1,12	10,2	—	29,3
Versuch mit dem B. esterificans	6,33	51,0	0,09	5,1	56,07	—	—	8,2	12,3

Versuche über die Wirkung der Mikroben auf Pentosane.

In dieser Versuchsserie haben wir ausschließlich Pentosane der Hülsen der Sonnenblumensamen benutzt, die wegen der leichteren Bearbeitung unter Laboratoriumsverhältnissen hierzu geeigneter sind, als Pentosane der Baumwollsamen. Die Herstellung der „Rohpentosane" geschah nach Salkowski: Die Hülsen wurden 3 Std. mit 3% NaOH gekocht, dann wurde die Flüssigkeit filtriert, dem Filtrat ein Drittel der Menge Fehlings Reagens zugesetzt; der sich dabei bildende braune flockenartige Niederschlag abfiltriert und vorsichtig in 2 proz. HCl wieder gelöst — die HCl muß in kleinen Portionen langsam bis zur neutralen Reaktion zugesetzt werden. Die neutrale Lösung wird nun mit der 4 fachen Alkoholmenge gefällt, der ausgeschiedene amorphe Niederschlag wird wiederum abfiltriert, mit Alkohol gewaschen und bei 100° getrocknet. Das erhaltene braune Pulver ist in Alkalien löslich und gibt weder die Reaktionen des Furfurols, noch die

Reaktion nach Fehling (die erstere fällt erst nach der Hydrolyse positiv aus). Die Bestimmung der Pentosane nach Tollens ergibt 65,4%, der Gehalt an Mineralstoffen in diesem Präparat beträgt 27,12%. Es wird vermutet, daß der hohe Gehalt an mineralischen Salzen in diesem Präparat von der Bildung der komplexen Kupferverbindungen (die bei der Fällung mit dem Fehlingschen Reagens entstehen) abhängt: einerseits löst sich die Asche in der HCl, die dabei bläulich wird, anderseits gelang es uns, im Präparat, das durch Fällung mit der 10 proz. HCl (d. h. ohne die Fehlingsche Lösung) hergestellt worden war, den Gehalt an Mineralsalzen bis 11,7% sinken zu lassen. In diesem letzteren Falle wurde der Alkaliextrakt des Rohstoffes mit 10 proz. HCl gefällt, der Niederschlag wiederum in Wasser gelöst, mehrmals mit der 4 fachen Alkoholmenge gefällt, schließlich in Wasser gelöst und bei 80—90° getrocknet; der Gehalt an Pentosanen betrug 66%.

Was nun die Natur der Beimengungen in unseren Präparaten anbetrifft, so war sie für unsere Zwecke ohne Belang, da Salkowski, der auf diese Weise Pentosane aus dem Holz und dem Stroh gewonnen hatte, festgestellt hat, daß die nach seinem Verfahren hergestellten Präparate hexosan- und pektinfrei sind.

Um die Frage zu erörtern, ob es möglich ist, Pentosane auf biochemischem Wege, d. h. ohne die vorherige Hydrolyse mit Säuren zur Gärung zu bringen, wurden die Versuche mit einer Anzahl von Arten angestellt, die eine von uns (Horowitz-Wlassowa)[1]) mit Erfolg für die Zerlegung der Zellulose angewendet hatte.

Es wurde das Nährmedium von McBeth (0,1% K_2HPO_4, 0,2% $(NH_4)_2SO_4$, 0,17% $MgSO_4$) mit Zusatz von 1% unserer „Rohpentosane“, als einzige Kohlenstoffquelle hergestellt und 4 Portionen dieses Nährmediums mit folgenden Arten beimpft: 1. *Micrococcus flavus cellulosae* n. sp., 2. *Clostridium cellulosae* n. sp., 3. *Clostridium aerobicum*, 4. *Sterigmatocystis*. Es sei bemerkt, daß die erstere Art in obenerwähnten Versuchen die Zerstörung von 0,3 g Zellulose, die zweite von 0,48 g während 35 Tagen bewirkt hatte; für *Sterigmatocystis* betrugen die betreffenden Werte nach 40 Tagen 1,947 g, nach 100 Tagen 3,246 g (das große Stück Filtrierpapier war vollkommen aus dem Kolben verschwunden). In Kulturen der 3 ersteren Arten in unserem Nährmedium mit Rohpentosanen blieb deren Menge nach 7 Tagen unverändert, und die Fehlingsche Reaktion war negativ. In der Probe mit *Sterigmatocystis* dagegen, wo der Pilz üppig gedieh, konnten wir die Abnahme der Pentosanenmenge und das Auftreten der Fehlingschen Reaktion beobachten. Die Tab. 5 ergibt die Resultate dieses Versuchs.

Tabelle 5.

	Kontrolle	Versuch
ph	6,5	4,5
Säuregehalt	—	8,0
Pentosane nach Tollens	0,9975	0,7875
Reduzierende Stoffe als Xylose berechnet	—	0,28

[1]) Die Arbeit liegt druckfertig vor.

Es geht aus diesen Angaben hervor, daß diese Art tatsächlich Pentosane unter Bildung von Pentosen zerlegt und die weitere Vergärung der gebildeten Pentosen bewirkt.

Um die Überzeugung zu gewinnen, daß die gebildeten reduzierenden Stoffe tatsächlich Pentosen (namentlich Xylose) sind, haben wir den biologischen Nachweis zu führen versucht. Es wurde dabei folgendermaßen verfahren: Die nicht zerstörten Pentosane wurden durch Fällung mit Alkohol entfernt, die filtrierte Flüssigkeit 6 fach durch Eindampfen auf dem Wasserbad konzentriert, mit der Fleischpeptonbrühe zu gleichen Teilen versetzt, und die 3 Portionen des auf diese Weise hergestellten Nährmediums mit den 3 folgenden Mikroorganismenarten beimpft: 1. Saccharomyces oxycocci der Xylose und Arabinose nicht vergärt: 2. B. lactis aerogenes, der dagegen die beiden Pentosen zur Gärung bringt, 3. eine Buttersäurebakterienart, die nur die Arabinose, nicht aber die Xylose vergärt. Die Gasbildung trat nur in der Portion mit dem B. lactis aerogenes auf — es scheint damit bewiesen zu sein, daß der in unseren Sterigmatocystis-Kulturen aus „Rohpentosanen" gebildete Zucker tatsächlich die Xylose ist.

Um eine Vorstellung über die Geschwindigkeit dieser Vorgänge zu haben, verfolgten wir sie während 3 Wochen — die Tab. 6 ergibt die Resultate dieser Analysen. Wie aus ihr ersichtlich ist, wurden während 3 Wochen 73.5% der vorhandenen Pentosane unter Bildung von Pentosen zerlegt; die entstandenen Pentosen wurden ihrerseits energisch unter Säurebildung vergoren. Bei näherer Betrachtung der Tabelle sehen wir, daß die beiden Vorgänge — Hydrolyse der Pentosane und Gärung der Pentosen — gleichzeitig verlaufen; aber bei der Alterung der Kulturen, d. h. mit der Abnahme der Pentosanenmenge und umgekehrt, mit der Zunahme der Pentosen, tritt der letztere Vorgang in den Vordergrund.

Tabelle 6.

	Fallung mit Fehlıngscher Reagens	Fallung mit Alkohol	ph	Saurегeh. in ccm der $^1/_{10}$ NaOH f. 100 c. c.	Reduz. Stoffe als Xylose berechnet	Pentosane nach Tollens
Kontrolle . . .	grobflockiger	Niederschlag	6,5	2,0	—	0,54
Versuch 1. Woche . .	kein Niederschlag	kleinflockig. Niederschlag	5.5	4,0	0,210	0.295
Versuch 2. Woche . .	dasselbe	Opaleszenz	4,5	8,0	0,280	0,182
Versuch 3. Woche . .	dasselbe	kaum sichtb. Opaleszenz	4,0	10,0	0,165	0,143

Es sei bemerkt, daß unsere Sterigmatocystisart, bei Impfung in das Nährmedium nach McBeth mit Zusatz von 1% Xylose, die letztere innerhalb von 3 Tagen gänzlich vergärte (die Reaktion nach Fehling war negativ, ph 5,5 anstatt 6,5 in der Kontrolle). Ähnliche Resultate haben wir mit anderen Pilzarten, wie Aspergillus niger, Aspergillus oryzae, Dematium, Penicillium, Monilia, erhalten — diese Pilze müssen also eine wichtige Rolle in den Umwandlungen der Pentosane in der Umwelt spielen.

Nachweis des Pentosane vergärenden Fermentes („Pentosanase") in Pilzen.

Es lohnte sich, zu erörtern, ob die Pentosanase in die Gruppe der Endofermente (wie die zuckervergärenden Fermente) oder der Ektofermente (wie proteolytische, amylolytische u. a. Fermente) gehört. Dazu wurde das Myzel der im Nährsubstrat von McBeth mit Xylose gezüchteten Sterigmatocystis nach 5 Tagen des Wachstums mit sterilem Wasser gewaschen (bis das Waschwasser keine Fehlingsche Reaktion mehr gab), sorgfältig auf dem Filtrierpapier bei 37° getrocknet und mit Sand verrieben (15 g Sand für 0,752 des trockenen Myzels). Das gesamte Pulver wurde in 100 ccm sterilen Nährsubstrates von McBeth mit 1,05 g Pentosan (1.6 g „Rohpentosan") eingeschüttet. Die Flüssigkeit, deren ph 6,5 betrug, wurde in Kontroll- und Versuchsportionen verteilt. Die Kontrolle wurde sofort analysiert: die Analyse der Versuchsportion, die mit Toluol versetzt und 8 Tage bei 37° aufbewahrt wurde, geschah nach 2, 5 und 8 Tagen. Die Tab. 7 gibt die Zusammenfassung dieser Versuche.

Tabelle 7.

	ph	Reaktion nach Fehling	Fallung mit Alkohol	Pentosane nach Tollens	Zucker als Xylose berechnet
Kontrolle	6,5	+++	+++	1,054	—
Versuche nach:					
2 Tagen	6,0	+	+	0,53	0,294
5 Tagen	5,5	—	±	0,169	0,635
8 Tagen	5,0	—	—	0,143	0,694

Tabelle 8.

	Alkoholprobe	Xylose
Kontrolle	+++	—
Aspergillus oryzae	+	0.07
Aspergillus niger	+	0,035
Penicillium	+	0,06
Dematium	+	0,065
Monilia	++	0,05
Sterigmatocystis	+	0.07

Die Tabelle zeigt, daß das Myzel eine energische Vergärung der Pentosane (bis 77,3% der Gesamtmenge innerhalb von 8 Tagen) bewirkt hat, die sich sogar intensiver als in lebenden Kulturen erwies; die Vergärung der gebildeten Xylose verlief dagegen viel langsamer, so daß ihre Menge immer stieg. Die Tab. 8 zeigt, daß das in derselben Weise bearbeitete Myzel mehrerer Schimmelpilze ebenfalls die Pentosanase enthält. Was nun die Frage nach der Löslichkeit des Fermentes betrifft, so muß sie negativ beantwortet werden, wie aus folgenden Versuchen hervorgeht. Es wurde eine 2 Wochen alte Kultur der Sterigmatocystis im Nährmedium von McBeth mit Pentosanen durch die Kerze filtriert, und 5 ccm des Filtrates (das die Fehlingsche Reaktion nicht ergab) mit 5 ccm des sterilen Nähr-

mediums von McBeth und 1% Pentosane aus den Hülsen der Helianthussamen gemischt — nach 6 Tagen des Aufbewahrens bei 37° war die Reaktion von Fehling immer noch negativ und die Alkoholprobe unverändert.

Versuche zur Gewinnung von Zitronensäure und Oxalsäure aus Pentosanen der Helianthussamenschalen.

Es lag der Gedanke nahe, daß es möglich wäre, die Zitronensäure (die bekanntlich zur Zeit aus Glukose oder Saccharose durch die Tätigkeit der Pilze im großen Maßstab hergestellt wird) auch aus Pentosen zu gewinnen. Solche Angaben fehlen in der Literatur: wir finden nur kurze Erwähnungen, daß einige organische Säuren, wie Äpfel- und Bernsteinsäure. sich in Kulturen des Aerobakters aus Pentosen bilden können. In unseren Sterigmatocystis-Kulturen mit 1% Pentosanen konnten wir mittels qualitativer Reaktionen (19) Zitronen- und Oxalsäure nachweisen. Es wurden deswegen zwei Versuchsserien angesetzt: 1. mit den Säurehydrolysaten des Alkaliextraktes der Helianthussamenhülsen, 2. mit demselben Alkaliextrakt, der zuvor der Wirkung unserer Pentosanase (bei ph 6,5) unterworfen worden war. Wir führen das Protokoll des Versuches mit dem Säurehydrolysat an. 450 g des Hydrolysats mit 1,89 g Xylose, die aus Pentosanen gebildet wurde, werden 2 g Kreide zugesetzt, und die Flüssigkeit wird mit Sterigmatocystis beimpft, die in folgendem Nährsubstrat gezüchtet worden ist: Xylose 15%, KH_2PO_4 0,15%, $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$ 0,07%, $FeCl_3$ 0,001%, $ZnSO_4$ 0,0012%. Nach 10 Tagen ist die Fehlingsche Reaktion negativ; dann wird die Kreide durch Zusatz von 10% HCl gelöst, dabei werden alle organischen Ca-Salze ebenfalls gelöst. Durch Zusatz von Natriumazetat wird Ca-Oxalat gefällt, der Niederschlag wird abfiltriert, gewaschen und getrocknet; die Ausbeute betrug 0,2657 g Oxalsäure, d. h. 14,06% der vergorenen Xylose. Es sei hinzugefügt, daß das Austitrieren der Lösung mit $KMnO_4$ den annähernden Wert der Oxalsäure ergab. Nach der Abfiltrierung des Ca-Oxalats wird die siedende saure Flüssigkeit mit NH_4OH versetzt, bis sie schwach sauer wird — dann fällt der charakteristische schwere weiße kristallinische Niederschlag des zitronensauren Ca aus, der sich in kaltem Wasser löst, in heißem dagegen wieder ausgefällt wird; der abfiltrierte, gewaschene und getrocknete Niederschlag wird gewogen. Es erweist sich, daß die Menge der Zitronensäure 0,5548 g beträgt, was 29,36% der vergorenen Xylose entspricht.

Nun folgt das Protokoll des Versuches mit dem Fermentlysat. In 450 ccm des Alkoholextraktes der Helianthussamen wurde das oben beschriebene Präparat des Sterigmatocystis-Myzels eingeführt. Die Fehlingsche Reaktion erschien schon am 2. Tage und die Zuckermenge, immer steigend, hat nach 7 Tagen 1,63 g erreicht; dann wurde dieses Fermentlysat — nach Entfernung des Toluols durch Kochen — mit Kreide versetzt und mit dem im Nährmedium von Butkewitch gezüchteten Sterigmatocystis-Myzel überschichtet, wie das bei der Herstellung der Zitronensäure üblich ist. Nach 12 Tagen wird das Myzel entfernt und die Flüssigkeit analysiert. Die Menge der Oxalsäure beträgt 10,3% der Xylosemenge, für die Zitronensäure beträgt der entsprechende Wert 21,7%.

Zusammenfassung.

1. Die Fähigkeit, Pentosane zu hydrolysieren, ist vorzugsweise den Schimmelpilzen, wie Aspergillus, Penicillium, Dematium u. a. eigen.

2. Die in beiden Fällen gebildeten Pentosen können von einigen Pilzen, wie Sterigmatocystis, unter Bildung organischer Säuren, wie Zitronen- und Oxalsäure, vergoren werden.

3. Die Hefen scheinen nicht imstande zu sein. Pentosen zu vergären; bis jetzt veröffentlichte Angaben scheinen nicht einwandfrei zu sein.

4. Außer den Pilzen sind verschiedene Bakteriengruppen, wie Aerobakter, Fäulnisbakterien, Buttersäurebildner, fähig, Pentosen zu vergären.

5. Nach unseren Angaben vergärt B. lactis aerogenes die Säurehydrolysate der Baumwollsamen und der Hülsen der Sonnenblumensamen unter Bildung von Milchsäure, Essigsäure und CO_2.

6. Dasselbe gilt für den B. esterificans, der hauptsächlich Buttersäure und CO_2 ergibt.

7. Die von uns geprüften Preßrückstände aus den Ölmühlen können, wegen ihres hohen Gehaltes an Pentosanen, für die Gewinnung verschiedener organischer Säuren (Essig-, Milch-, Butter-, Zitronen-, Oxalsäure) benutzt werden.

Die Frage der Verwendung anderer pentosanreicher und weitverbreiteter Stoffe zu diesem Zwecke, wie Mais-, Weizen-, Roggen-, Haferstroh u. a. beansprucht ebenfalls großes Interesse.

Literaturverzeichnis.

1. P. M. Ssilin und Z. A. Ssilina, Kolorimetrische Bestimmung der Pentosen und der Pentosane. (Garungsindustrie. Bd. 3. 1932.) [Russisch.] — 2. Tolman, Journ. Amer. Chem. 1906. p. 1629. — 3. Ssadikow und Bjelikow, Über das titrimetrische Verfahren fur die Bestimmung des Furfurols in Pentosen und Pentosanen. (Arb. a. d. wissenschaftl. Inst. der Lebensmittel-Industrie. Bd. 3. H. 3.) [Russisch.] — 4. Cross, Bevan and Smith, Journ. Chem. Soc. Transact. Vol. 71. Part II. p. 1000. — 5. Anderson, Studies in the Biological Science. Vol. 5. — 6. White and Willaman, Fermentation of pentoses by Fusarium lini. (The Biochem. Journ. Vol. 22. H. 2. 1928.) — 7. Abbot, Missouri Agr. Exp. Stat. Res. Bull. 85. 1926. — 8. Delaphine, G., Rose, E. B., Fred, and W. H. Peterson, A biochemical Study of growth of the yeasts and yeast-like Organisms on Pentose-Sugars. (Ztschr. f. Bakt. Abt. II. Bd. 9. 1929. S. 8.) — 9. Plewako und Altowskaïa, Ausnutzung der Pentosen durch Hefe. Oospora 203. (Arb. a. d. wissenschaftl. Inst. der Lebensmittel-Industrie. H. 5. 1932. p. 13.) [Russisch.] — 10. Castellani and Taylor, Journ. of American Medical Association. No. 8. 1926. — 11. Gottschalk, Azetaldehyd als Zwischenstufe bei der Pentosenvergarung durch infizierte Hefe. (Ztschr. f. physik. Chemie. Bd. 163. 1927. S. 136.) — 12. Grimpert, C. R. Seances de la Soc. de Biol. T. 43. 1896. p. 191—192. — 13. Foote, Peterson und Fred, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 82. 1930. S. 379. — 14. Bendix, Ztschr. fur diätetische u. physikal. Therapie. Bd. 3. 1900. S. 587. — 15. Emmerling, Ber. d. Chem. Bd. 30. 1897. S. 1869—1870. — 16. Fred, Peterson and Davenport, Journ. Biol. Chem. Vol. 39. 1919. p. 247—284. — 17. Fred, Peterson and Davenport, Journ. Biol. Chem. Vol. 42. 1920. p. 175. — 18. Fred, Peterson and Anderson, Journ. Biol. Chem. Vol. 53. 1923. p. 111. — 19. Filossofow, Nachr. d. Forschungsinst. d. Zucker-Industrie. Bd. 4. H. 7. 1927. [Russisch.]

Referate.

Bücher, Institutsberichte usw.

Oppenheimer, C., Handbuch der Biochemie des Menschen und der Tiere. 2. Aufl. Ergänzungswerk; II. Band; Ergänzung zu Band IV—VI des Hauptwerkes. XVIII + 961 S., mit 41 Abb. im Text. Jena (Gustav Fischer) 1934. Preis brosch. 71 RM., geb. 78 RM.

Was in dieser Zeitschrift, Bd. 89. 1934. S. 402, anläßlich der Besprechung des ersten Bandes dieses Ergänzungswerkes gesagt ist, gilt in vollem Maße auch für den nunmehr fertig vorliegenden zweiten Band.

Er enthält die neuesten Ergebnisse über die Chemie der Gewebe und Organe, über Sekretion und Sekrete, Verdauung, Resorption und Exkretion, Ernährung, Gaswechsel und Gesamtstoffwechsel. Die Aufteilung des Stoffes unter die zahlreichen für das jeweilige Gebiet sachverständigen Mitarbeiter bürgt für erschöpfende, klare und zugleich kritische Darstellung, wobei der Fortschritt der wissenschaftlichen Erkenntnisse zuweilen eine Korrektur bisher geltender Anschauungen notwendig gemacht hat.

Dieser zweite Band dürfte u. a. auch dem Mikrobiologen wiederum eine solche Unsumme von Neuem und Wissenswertem bieten, daß seine Anschaffung sich im Hinblick auf den im Verhältnis zu Umfang und Inhalt billigen Preis unbedingt lohnt. Stapp.

Kordatzki, W., Taschenbuch der praktischen p_H-Messung für wissenschaftliche Laboratorien und technische Betriebe. 231 S., 65 Abb. München (Verlag R. Müller & Steinicke) 1934. Preis brosch. 6,90 RM., geb. 8 RM.

Entsprechend dem Titel versucht Verf. in diesem Handbüchlein Methoden und Hilfsmittel der praktischen Durchführung von p_H-Messungen klar und auch für physikalisch-chemisch weniger Geschulte verständlich darzulegen. Dabei kann natürlich nicht auf die wissenschaftlichen Grundlagen dieses Gebietes ganz verzichtet werden, die in den ersten beiden Teilen auf rund 54 Seiten abgehandelt sind. Das Wesentliche hierüber ist in kurzen und prägnanten Sätzen jeweils noch als „Vorblick" an den Anfang gestellt. Im dritten umfassendsten Teil finden sich die Anweisungen für die praktischen Messungen unter einfachen und erschwerteren Verhältnissen mit einer größeren Reihe von Apparaten, deren Eignung Verf. selbst erprobt hat. Der vierte Abschnitt gibt einen Überblick über den Verwendungsbereich der Messungen in Wissenschaft und Praxis, wobei die einzelnen Wissenschafts- und Industriezweige gesondert Berücksichtigung finden und hinter jedem Teilgebiet die hauptsächlichste Literatur genannt ist.

Die verständliche und anschauliche Darstellung, unterstützt durch zahlreiche Abbildungen, sowie der niedrige Preis dürften dem Büchlein einen sicheren Erfolg gewährleisten. Stapp.

Lucksch, Fr., Die Virusformen. „Filtrierbare Infektionserreger", „Ultravirus". Mit einem Anhang über die sanitätspolizeilichen Vorschriften, betreffend die „Viruskrankheiten" in der Tschechoslowakischen Republik von Ministerialrat Priv.-Doz. Dr. Rud. Ziel. 230 S., mit zahlr. Textabb. und 3 farb. Taf. Prag (I. G. Calvesche Universitätsbuchhandlung Rob. Lerche) 1934. Preis 5 RM.

Da das Buch in erster Linie für Mediziner geschrieben ist, werden vor allem Ätiologie und Pathologie derjenigen Krankheiten des Menschen und

der Tiere ausführlich erörtert, die durch unsichtbare Erreger verursacht werden. Pflanzliche Virosen werden nur insoweit, als sie für die allgemeine Pathologie von Bedeutung sind, berücksichtigt und auch hier nur sehr unvollkommen.

Unter „Virus" will Verf. jeden Krankheitserreger verstanden wissen, „der weder zu den Bakterien, noch zu den Protozoen gehört". Von diesem Wort gibt es „im klassischen Latein keinen Plural, wir müssen denselben daher unter Zuhilfenahme deutscher Worte wie ‚Formen' oder ‚Arten' bilden. . . ." (Warum so umständlich? Gefällt Verf. die Mehrzahl „Vira" oder „Viren" nicht, die zumeist in Deutschland gebräuchlich ist? d. Ref.) Sie werden in 3 Gruppen unterteilt: 1. Solche, „die wir ohne weiteres als selbständige Lebewesen werden ansprechen können"; 2. solche, „von denen wir glauben, sagen zu können, daß es bestimmt keine selbständigen Lebewesen sind" und 3. solche, „die nicht mit vollständiger Sicherheit nach der einen oder der anderen Richtung hin gedeutet werden können".

In die 2. Gruppe stellt Verf. u. a. das Virus der Pflanzen und den Bakteriophagen. Da diese „augenscheinlich auf gewisse Reize hin innerhalb der Zelle" entstehen, nicht sichtbar zu machen und filtrierbar sind, ferner nur innerhalb von lebenden Zellen zur Vermehrung gebracht werden können, schlägt Verf. hierfür den Namen „Virusenzyme" vor, eine Wortkombination, die die Nomenklatur nicht vereinfachen, sondern unnötig komplizieren dürfte.

Verf. hält nicht nur das Auftreten filtrierbarer Formen (Körnchen) von Tuberkelbakterien, Lepra- und Diphtheriebazillen für gesichert, sondern will auch bei Aktinomyzeten solche kleinsten, filtrierbaren und wieder regenerationsfähigen Formen beobachtet haben. Stapp.

Dorff, P., Die Eisenorganismen. Systematik und Morphologie. Heft 16 der Pflanzenforschung. Herausgeber R. Kolkwitz. 62 S., mit 40 Textabb. Jena (Gustav Fischer) 1934. Preis 3,60 RM.

In Anlehnung an die Formulierung E. Naumanns faßt Verf. als „Eisenorganismen" alle die Lebewesen auf, die sich merklich an der Ausfällung von Eisenverbindungen „beteiligen", wobei es gleichgültig ist, ob diese Organismen das Eisen „speichern" oder es frei abscheiden. Da nicht nur Bakterien eine solche Fähigkeit zukommt, sondern auch anderen Organismen aus dem Pflanzen- und dem Tierreich, zählen nach Verf. alle diese hierher. Es wird die engbegrenzte Gruppe der „Anorgoxydanten" Winogradskys abgelehnt. Die Eisenbakterien werden systematisch in 17 Gattungen mit 42 Arten unterteilt, von denen 9 Gattungen mit 22 Arten zu den Haplobakterien, 7 Gattungen mit 18 Arten zu den Trichobakterien und 2 Arten zu den Aktinomyceten gerechnet werden. 7 Arten wurden neu aufgefunden. 10 bekannte Arten wurden umbenannt und im System entsprechend umgestellt. Aus Prioritätsgründen wurde u. a. der Gattungsname Chlamydothrix Migula durch Leptothrix Kützing ersetzt.

Von den nichtbakteriellen Eisenorganismen sind die wichtigsten die Cyanophyceen. Bei den Desmidiaceen ist eine Membranvererzung, bei anderen Algengruppen wie den Chlorophyceen und Rhodophyceen Gallertvererzung nachgewiesen. Auch bei bestimmten Pilzen, einigen Archegoniaten und Phanerogamen ist Eisenspeicherung als regelmäßig vorkommend festgestellt worden. Im Anhang finden tierische Eisenfäller Erwähnung.

Ein vollständiges Literaturverzeichnis bildet den Schluß der dankenswerten und gründlichen Bearbeitung dieses ebenso wichtigen wie interessanten Gebietes. Stapp.

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virusuntersuchungen.

Rahn, O., The disagreement in mitogenetic experiments, a problem in bacterial physiology. (Journ. of Bacter. Vol. 28. 1934. p. 153—158.)

Verf. weist in seiner Arbeit darauf hin, daß abweichende Ergebnisse bei mitogenetischen Versuchen nicht gegen die Existenz der mitogenetischen Strahlung sprechen, sondern zum größten Teil auf verschiedene Versuchsbedingungen bei den einzelnen Versuchsanstellern zurückzuführen sind. Er betont, daß z. B. bei Hefen eine mitogenetische Einwirkung nur in der der log. Phase der Vermehrung vorausgehenden Phase zu beobachten ist, daß also die Wahl des geeigneten Versuchsobjektes in der geeigneten physiologischen Verfassung wichtig ist. Ebenso macht er auf gewisse wenig bekannte Fehlerquellen aufmerksam, z. B. auf die Tatsache, daß Bunsenbrenner Strahlen aussenden, die in ihrer Wirkung der mitogenetischen Strahlung gleichen, die also die Versuchsergebnisse fälschen können. Zu berücksichtigen ist weiter, daß es sich um ein neues Gebiet der Forschung handelt, und daß wir nicht alle Bedingungen für das Eintreten der mitogenetischen Wirkung kennen. Richter (Kiel).

Greaves, J. E., Greaves, J. D., and Hickman, I., The growth and metabolism of mixed cultures of ammonia-producing microorganism. (Journ. of Bacter. Vol. 28. 1934. p. 159—167.)

Verff. untersuchten die Ammoniakbildung von 3 natürlichen ausgelaugten. 7 künstlich hergestellten ausgelaugten und 1 natürlichen nicht alkalihaltigen Boden bei Einimpfung in Peptonlösung. Sie konnten feststellen, daß die Ammoniakbildung entsprechend der von Pearl und Reed aufgestellten Formel vor sich geht. In alkalihaltigen Böden war ein höherer Gehalt an Organismen vorhanden, die in Peptonlösung zu wachsen und Ammoniak zu bilden vermögen. Richter (Kiel).

Lewis, I. M., Cell inclusions and endospore formation in Bacillus mycoides. (Journ. of Bacter. Vol. 28. 1934. p. 133—144.)

Über die Art der Sporenentstehung und insbesondere über die Rolle, die die vor der Sporenbildung in der Zelle vorkommenden Granula bei der Sporenbildung spielen, herrschen zur Zeit noch verschiedene Ansichten. Verf. hielt es daher für notwendig, die Art der Sporenbildung bei B. mycoides noch einmal einer genauen Untersuchung zu unterziehen. Seine Beobachtungen ergaben, daß sich die Sporenbildung in der von Preisz beschriebenen Art vollzieht. In der Zelle entwickelt sich zuerst eine Membran, die die Vorspore von der Zellmasse abtrennt, innerhalb der Vorspore, die durch ein stärkeres Plasmabildungsvermögen gekennzeichnet ist, differenzieren sich 2 Schichten, die vom Verf. als Endosporium (späterer Sporenkörper) und Exosporium (hyaline Außenschicht) bezeichnet werden. Das Endosporium bildet die eigentliche Sporenmembran aus, während bei der

reifen Spore Reste des Exosporiums als anhängende Plasmareste beobachtet werden können. Die vor der Sporenbildung in der Bakterienzelle vorhandenen Granula beteiligen sich nicht direkt an der Sporenbildung, nach den Untersuchungen des Verf.s müssen sie als tote, fettartige Stoffe aufgefaßt werden, die vielleicht als Reservestoffe zu deuten sind. Die Endosporen stellen nach Ansicht des Verf.s ungeschlechtliche Reproduktionsorgane dar, die den Sporen der Pilze gleichzustellen sind. Richter (Kiel).

Kritschewski, I. L., and Ponomarewa, I. W., On the pleomorphism of bacteria. I. On the pleomorphism of B. paratyphi B. (Journ. of Bacter. Vol. 28. 1934. p. 111—126.)

Die Untersuchungen wurden unter Anwendung der von Pokrovskaja angegebenen Methodik an Agar-Deckglaspräparaten unter Verwendung der Giemsa-Färbung durchgeführt. Als Nährboden wurde Nähragar mit 1—2% Raffinose-Zusatz verwendet, da die Organismen auf diesem Nährboden regelmäßig Sekundärkolonien bilden. Das Untersuchungsmaterial wurde den Sekundärkolonien entnommen. Färbepräparate, die zu verschiedenen Zeiten entnommen wurden, zeigten eine außerordentliche Mannigfaltigkeit in den morphologischen Erscheinungsformen; neben den normalen Stäbchen traten Kugelzellen, Trypanosomen-ähnliche Formen, Fadenformen, Spindelformen usw. auf, die zum Teil wesentlich größer waren als die normalen Stäbchen. In einem Teil dieser Formen konnten die von Pokrovskaja als Kerne gedeuteten Gebilde nachgewiesen werden. Auf Ausstrichpräparaten, die zum Vergleich angelegt waren, konnten diese abweichenden Formen nicht oder wenigstens nur angedeutet nachgewiesen werden; Verff. erklären diese Tatsache dadurch, daß bei dem Ausstreichen die Formen so stark beschädigt werden, daß sie nicht mehr mit Sicherheit nachgewiesen werden können. Eine Deutung der Formen als teratologische, bzw. Involutions-Formen wird von Verff. abgelehnt, die Formen werden vielmehr als Beweis für einen echten Pleomorphismus angesehen, ohne daß allerdings Schlüsse im Sinne einer Cyclogenie gezogen werden. Die der Arbeit beigegebenen Mikrophotographien zeigen, daß es sich um die gleichen Formen handelt, die von Kuhn als „Pettenkoferien" bezeichnet wurden, und die von anderen Autoren als teratologische Formen gedeutet werden konnten. Da von den Verff. nur Beobachtungen an Färbepräparaten durchgeführt wurden, ohne daß die Entwicklungsfähigkeit direkt geprüft wurde, glaubt Ref. berechtigt zu sein, auch diese Formen als teratologische Formen auffassen zu dürfen und vor zu weitgehenden Schlüssen warnen zu müssen. Richter (Kiel).

Thompson, R., An organism with transverse capsule. (Journ. of Bacter. Vol. 28. 1934. p. 41—43.)

Aus der Amnion-Flüssigkeit von Rindern konnte von Verf. ein zur Gattung Aerobacter gehöriger Organismus isoliert werden, der durch Bildung einer deutlichen Querkapsel ausgezeichnet ist. Für den Organismus wird der Name Aerobacter transcapsulatus vorgeschlagen. Richter (Kiel).

Smith, D. E., and Joffe, E. W., Variations in the electophoretic mobilities of the Brucella groups. (Journ. of Bacter. Vol. 28. 1934. p. 127—121.)

Es ist bekannt, daß im kataphoretischen Verhalten zwischen S- und R-Formen bei Bakterien teilweise Unterschiede vorhanden sind. Verff.

hielten es deshalb für möglich, daß auch bei der Gruppe Brucella derartige Unterschiede auftreten könnten, die eine Differenzierung gestatten würden. Die von ihnen durchgeführten Versuche ergaben, daß den einzelnen Stämmen eine erhebliche Variationsbreite bei der Kataphorese zukommt, die die Festlegung von Gruppen außerordentlich erschwert. Sie konnten zwar feststellen, daß die bovinen Stämme i. a. die geringste kataphoretische Wanderung aufwiesen, während die caprinen Stämme die stärkste besaßen, doch ist es auf Grund ihrer Versuche nicht möglich, eine einwandfreie Differenzierung nach dem kataphoretischen Verhalten vorzunehmen.

Richter (Kiel).

Hegarty, C. P., and Rahn, O., Growth retardation by freshly distilled water. (Journ. of Bact. Vol. 28. 1934. p. 21—30.)

Die Untersuchungen umfaßten 3 verschiedene Wassersorten: Frisch destilliertes Wasser (reich an Monohydrol); altes Wasser (reich an Dihydrol) und frisches Eiswasser (reich an Trihydrol). Zu je 50 ccm dieser 3 Wassersorten wurde 1 ccm konz. Nährlösung gegeben und die Mischungen gleichmäßig beimpft, als Testorganismus wurde B. coli verwendet. Es zeigte sich eine Wachstumshemmung bei frisch destilliertem Wasser, die auch noch festgestellt werden konnte, wenn das Wasser 4 Std. gealtert war. Die Katalase- und Pepsin-Wirkung wurde durch die 3 Wasserarten nicht behindert, ebenso zeigte das Fermentsystem der alkoholischen Gärung keine Beeinflussung. Nach Ansicht der Verff. wird durch die Wassersorten direkt die Synthese der organischen Substanz beeinflußt. Richter (Kiel).

Prica, M., Über die bactericide Wirkung einiger kolloidaler Lösungen und ihre hygienische Bedeutung. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 116. 1934. S. 385—396.)

Destilliertes Wasser, in das feinkörniger Kieselsand gegeben wurde, zeigte nach einigen Monaten Stehen bei Zimmertemperatur eine starke bakterizide Wirkung (Bakteriolyse) gegenüber Bact. coli, Bact. paratyphi B und Staph. pyogenes aureus, also sowohl gegenüber gramnegativen als auch gegenüber grampositiven Bakterien. Die bakterizide Kraft war besonders stark bei 37°. Als Ursache der Bakterizidie wurde die kolloidal gelöste Kieselsäure ermittelt. In 1 l Wasser konnten 0,073 g kolloidal gelöste Kieselsäure festgestellt werden. Mit Entfernung der kolloidal gelösten Kieselsäure (durch Ultrafiltration durch Ultrafilter nach Bechold, durch Zusatz von Carbo animalis und Bolus alba als auch von Salzen) ging die bakterizide Kraft verloren. Damit wurde ein neuer, bisher unbekannter Faktor nachgewiesen, der wahrscheinlich neben anderen schon bekannten Momenten eine wichtige Rolle bei der natürlichen Selbstreinigung des Wassers spielen kann. Künstlich zubereitete kolloidale Kieselsäure (Heyden) wirkte auch bakterizid. Besonders stark aber wirkten Verdünnungen von Kieselsandwasser und von kolloidaler Kieselsäurelösung, die mit destilliertem Wasser in einer Verdünnung von 1 : 20 und 1 : 50 hergestellt waren. Noch bei einer Menge von 0,000 001 476 g kolloidal gelöster Kieselsäure war sehr starke Wirkung zu beobachten. Starke Bakterizidie zeigten schließlich die kolloidale Tonerdelösung und die kolloidale Eisenhydroxydlösung (Heyden). Es scheint, daß auch diese beiden kolloidalen Lösungen bei der Selbstreinigung des Wassers mitwirken können. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Schreder, K., Brunner, R. und Hampe, R., Pseudomonas Lindneri-Kluyver. (Termobakterium mobile Lindner.) III. Mitt.: Die Stoffwechselbilanz seiner aeroben und anaeroben Gärung in organischen Nährmedien. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 51. 1934. S. 241—245 u. 249—253.)

Bei der Stoffwechselbilanz anaerober und aerober Gärung des Bakteriums in zuckerhaltiger anorganischer Nährlösung ergab sich gute gewichtsmäßige Übereinstimmung zwischen den der Gärung zugeführten und durch sie erhaltenen Stoffen. Für die Bestimmung des Sauerstoffs und des Alkohols neben Azetaldehyd wurden geeignete Verfahren ausgearbeitet, zur Bestimmung der bei den Stoffwechselversuchen auftretenden Gewichtsveränderungen der Bakterienmasse wurde eine Filtrationsapparatur unter Zuhilfenahme vorbehandelter Entkeimungsfilter geschaffen. Beim Vergleich der Assimilationsgröße zwischen den anaeroben und mäßig gelüfteten aeroben Versuchen wurde diese fast gleich, mitunter bei ersteren etwas höher gefunden. Bei Steigerung der Lüftungsintensität bei den aeroben Versuchen wurde die erwartete Steigerung der Assimilation nicht beobachtet, diese war vielmehr weit geringer als bei den mäßig gelüfteten aeroben Versuchen. Bei den aeroben Versuchen mit von Anfang an zugesetztem Alkohol konnte eine Alkoholassimilation nur bei den schwach gelüfteten festgestellt werden, während bei den stärker gelüfteten schon bei einer solchen Lüftungsintensität Assimilationshemmung eintrat, bei welcher die gewöhnlichen aeroben Versuche in der Assimilation kaum oder nur sehr wenig gehemmt erschienen. Diese Assimilationshemmung wurde vor allem der mit der Lüftung steigenden Azetaldehydbildung zugeschrieben, was durch besondere Versuche bestätigt werden konnte. Neben der Assimilationshemmung wurde bei diesen stärker gelüfteten aeroben Versuchen auch eine Verminderung der Gärungsintensität beobachtet, die sogar bis zum Steckenbleiben der Gärung führen kann. Bei den stärker gelüfteten Versuchen mit geringer Assimilation wurden immer hohe Azetalhedyd- und Azetylmethylkarbinol- und niedrige Essigsäurewerte gefunden. Die Essigsäurebildung der aeroben Gärung scheint zum großen Teil auf Dismutation des Azetaldehyds zurückzuführen zu sein. Bei stärkerer Lüftung wird diese Dismutation offenbar gestört. Der Sauerstoff, der bei den aeroben Versuchen aufgenommen wird, wird zum größten Teil für die Bildung von Aldehyd und Essigsäure verbraucht, der weitaus kleinere Teil dient zur Atmung und evtl. Assimilation von Alkohol.

Heuß (Berlin).

Ingraham, M. A. und Baumann, C. A., The relation of microorganisms to carotenoids and vitamin A. I. The occurrence of carotene in bacteria. (Journ. of Bacter. Vol. 28. 1934. p. 31—40.)

Die Untersuchungen der Verff. ergaben, daß Carotin in sehr vielen Bakterien vorkommt. Es wurde in fast allen Organismen nachgewiesen, die orange Farbstoffe bilden. Bei einer Organismenart wurde eine Menge von 0,58 mg pro Gramm Bakterientrockensubstanz nachgewiesen, also ein wesentlich höherer Gehalt als in Wurzeln. Der Carotingehalt steigt während der Entwicklung bis zu einem Maximum an, um später wieder abzusinken, ebenso ergab sich eine Abhängigkeit von der Art des Nährbodens.

Richter (Kiel).

Stockhausen, F., Über Rassenveränderlichkeit der Hefe und Erfahrungen über Behandlung der Hefe in der Praxis und bei der Hefereinzucht. (Tagesztg. f. Brauerei. Bd. 32. 1934. S. 697.)

Eine bestimmte Heferasse kann sich in ihren Eigenschaften in verschiedenen Betrieben in ganz entgegengesetztem Sinne verhalten. Ausgesprochene Bruchhefen werden zu Staubhefen, untergärige Hefen nehmen obergärige Eigenschaften an. Letztere Eigenschaft zeigt sich zuweilen sogar bei der aus einer Zelle stammenden Reinkultur im Reinzuchtapparat, so daß der Rassebegriff nicht etwas unbedingt Feststehendes zu sein scheint. Anderseits ist nicht zu übersehen, daß das Abwerfen alter Eigenschaften eine vorübergehende Erscheinung ist, die durch die äußeren, besonders die Ernährungsbedingungen beeinflußt wird, die sich durch verschiedene Änderungen der technischen Verfahren gegenüber früher in mancher Hinsicht geändert haben. Wichtig für die Eigenschaften einer Hefe ist das Verhältnis, in dem Albumosen. Amid- und Formoleiweiß in der Würze vorhanden sind. Steigt der Gehalt an Amid- und Formoleiweiß über zwei Drittel, dann wird eine hochvergärende Hefe gärträge. Auch der Gummigehalt scheint charakteristisch zu sein: höchstvergärende Rassen haben den niedrigsten, niedrigvergärende den höchsten Gummigehalt. Hefengummi ist im Gegensatz zu Glykogen kein Reservekohlehydrat und wird bei Nahrungsmangel nicht verbraucht, es nimmt während der Gärung ständig zu und ist wichtig für Vollmundigkeit und Schaumhaltigkeit des Bieres. Wenn Hefe von einem Betrieb in einen anderen gebracht wird, dann entartet sie durch den Wechsel der Ernährungsbedingungen häufig. So können beispielsweise die aus kalkhaltigen Würzen stammenden Münchener Hefen in den kalkarmen Würzen von Pilsen nur wenige Male geführt werden. Die Aufbewahrung der Hefe muß in möglichst kaltem Wasser erfolgen und darf nicht zu lange dauern. Bei Neuzüchtungen von Hefe empfiehlt es sich, eine größere Anzahl von Einzellkulturen zu machen und dann die Nachkommen von 5—6 gleichartigen Zellen zu einem Stamm zu vereinigen. Ein solcher Stamm stellt ein Gemisch dar, von dem auch unter veränderten Ernährungsbedingungen beste Leistungen erwartet werden können.

Heuß (Berlin).

May, O. E., and Herrick, H. T., Some practical and theoretical aspects of mold metabolism. (Journ. of Bacter. Vol. 28. 1934. p. 145—151.)

Verff. geben an Hand einer Literaturübersicht einen Überblick über die praktische Ausnutzung und über die theoretische Deutung bestimmter Stoffwechselvorgänge bei Schimmelpilzen. Bei den Säuregärungen werden besonders die Zitronensäuregärung und die mit ihr zusammenhängenden Bildungsvorgänge für Fumar- und Bernsteinsäure behandelt. Bei der Besprechung der Gluconsäurebildung weisen sie darauf hin, daß die Gluconsäure wahrscheinlich durch direkte Oxydation bzw. Dehydrierung aus Glukose entsteht.

Richter (Kiel).

Skinner, C. E., The synthesis of aromatic amino acids from inorganic nitrogen by molds and the value of mold proteins in diets. (Journ. of Bact. Vol. 28. 1934. p. 95—106.)

In der Einleitung weist Verf. darauf hin, daß die Frage, ob Schimmelpilze

aromatische Aminosäuren aus anorganischem Material zu bilden vermögen, nicht eindeutig gelöst ist, und daß dieses Problem für die Ernährung u. U. praktische Bedeutung erhalten kann. Durch seine Untersuchungen will er erreichen, daß diese Frage erneut in Angriff genommen wird. Als Nährboden wurde von ihm ein mineralischer Nährboden mit 2% Glucose verwendet, auf dem die geprüften Organismen gutes Wachstum zeigten. Mycel und Sporenmaterial wurden nach Bebrütung und Erhitzung auf 100° von der Nährflüssigkeit getrennt und das so gewonnene Material z. T. zu chemischen Untersuchungen, z. T. zu Fütterungsversuchen verwendet. Als Versuchstiere kamen Ratten zur Anwendung. Die chemische Untersuchung ergab, daß von den geprüften Schimmelpilzen sowohl Tyrosin als auch Tryptophan gebildet wurden. Als Eiweißquelle war bei sonst ausreichender Nahrung das Schimmeleiweiß anderen Eiweißarten unterlegen, erst bei hoher Gabe vermochte es normales Wachstum zu bewirken. Durch „gepaarte Fütterungsversuche" nach Mitchell und Beadles konnte festgestellt werden, daß Cystin im Schimmeleiweiß nur in so geringer Menge vorhanden ist, daß hierdurch das Wachstum beschränkt wird. Aus den Versuchen läßt sich der Schluß ziehen, daß alle für die Ernährung höherer Tiere notwendigen Aminosäuren gebildet werden. Richter (Kiel.)

Enzymologie und Bakteriophagie.

Weidenhagen, R., Über die Anreicherung von β-h-Fruktosidase (Invertase) in untergäriger Bierhefe. (Ztschr. f. angew. Chemie. Bd. 49. 1934. S. 581—582.)

Die Frage nach dem Wirkungsmechanismus, der Enzyme und Substrate beherrscht, ist noch keineswegs geklärt und wird vielleicht erst geklärt werden können, wenn die chemische Kennzeichnung eines kohlehydratspaltenden Enzymes einmal gelungen ist. Die Spezifitätsforschung bei den Karbohydrasen hat das Rätsel nicht gelöst, es erscheint damit das Problem der Isolierung der aktiven Substanz wieder mehr in den Vordergrund gerückt. Für derartige Versuche besonders geeignet scheint die rohrzuckerspaltende Invertase der untergärigen Bierhefe, weil sie durch eine außerordentliche Beständigkeit ausgezeichnet ist und sich in idealer Weise von der lebenden Substanz trennen läßt, außerdem ist die Wirksamkeitsbestimmung des Enzyms einfach durchzuführen.

Zur erfolgreichen Durchführung der Versuche wurde ein Verfahren ausgearbeitet, bei dem die notwendigen großen Hefemengen unter Neubildung des Enzyms zum Umsatz gebracht werden konnten. Es bestand in einer Kombination starker Lüftung und Gärung bei minimaler Zuckerkonzentration. Dadurch wurde eine so weitgehende Verkürzung des Stimulationsvorgangs erreicht, daß innerhalb eines Zeitraumes von 8—10 Std. in einem einzigen Arbeitsgang die Anreicherung der β-h-Fruktosidase auf das 10—15fache steigt. Der Stimulationsgrad hängt stark von dem ursprünglichen Enzymgehalt der Hefe ab, am besten lassen sich enzymarme Hefen stimulieren. Für die einzelnen Faktoren der Stimulationsgärung: Luftmenge, Temperatur, Azidität und Zuckermenge gibt es stets ein charakteristisches Optimum, die Stickstoffgabe scheint daneben ziemlich bedeutungslos. Es scheint, als ob für die erste Neubildung von Invertase der notwendige Stickstoff von der Hefe aus eigenem Vorrat gedeckt wird. Die Prüfung verschiedener Kohlenstoffquellen dagegen zeitigte interessante Ergebnisse. Eine spezifische Wirkung zeigte sich nämlich nur bei Verwen-

dung von Zucker, von denen Saccharose und Fruktose die höchsten Werte lieferten. Nichtzuckerartige Kohlenstoffquellen erwiesen sich nur in manchen Fällen und auch nur in geringem Umfang als Energielieferanten bei der Lüftungsstimulation. Zur Untersuchung der Frage, welche physiologische Wirkung die Luftwirkung bei der Enzymbildung spielt, stellte man besondere Versuche mit Stickstoff und reinem Sauerstoff an. Mit beiden Gasen wurde ein geringerer Stimulationsgrad als mit Luft erzielt, deren spezifische Wirkung damit erwiesen ist, die jedoch keinesfalls nur in einem schnelleren Fortführen der bei der Gärung entstehenden Stoffwechselprodukte besteht. Heuß (Berlin).

Weidenhagen, R., Carbohydrasen. (Ztschr. f. angew. Chemie. Bd. 47. 1934. S. 451—456.)

Karbohydrasen sind diejenigen Enzyme, welche die hydrolytischen Spaltungen in der Kohlenhydratreihe bewirken. Sie spalten Glykoside in Zucker und Aglykon sowie Oligo- und Polysaccharide in die einfachen Zuckerbausteine. Dieser Tätigkeit entsprechend sind sie in tierischen und pflanzlichen Zellen weit verbreitet. Ihre Erforschung hat von jeher eine besondere Pflege erfahren, weil einmal die Isolierung der aktiven Substanz in diesem Fall in idealer Weise möglich ist, zum anderen, weil die analytische Verfolgung ihrer Wirkung auf polarimetrischem Wege oder durch Reduktionsbestimmung der auftretenden Zuckerspaltstücke gegenüber Fehlingscher Lösung besonders einfach ist. Außerdem hat man durch die Zuckerchemie eine genaue Kenntnis der durch diese Enzymgruppe zum Umsatz kommenden Substrate, deren konstitutionelle und konfigurative Beschaffenheit für die Charakterisierung der Enzyme so wichtig ist.

In seiner Übersicht, welche die Fortschritte der physiologischen Chemie auf dem Enzymgebiet umreißt, behandelt Verf. Spezifität und Wirkungsbereich der Karbohydrasen, die enzymatische Spaltung des Rohrzuckers, die enzymatische Spaltung von Raffinose und Melezitose, die Spezifität des Emulsins, die enzymatische Spaltung der Polysaccharide und schließlich die Möglichkeiten der Anreicherung der aktiven Enzymsubstanz nach dem neuesten Stand unserer Erkenntnisse. Heuß (Berlin).

Menon, K., Studies in the Physiology of Parasitism. XIV. Comparison of Enzymatic Extracts Obtained from Various Parasitic Fungi. (Annals of Botany. Vol. 48. 1934. p. 187—210.)

Verf. will in der Hauptsache die Frage klären, ob die Pektinase, die man von verschiedenen Pilzen erhält, gleiche Eigenschaften aufweist. Gleichzeitig sollte festgestellt werden, ob die Ergebnisse von Chona richtig sind. Zu diesem Zwecke gebrauchte Verf. Reinkulturen von Botrytis cinerea, Monilia fructigena, Pythium de Baryanum, Phytophthora erythroseptica, Fusarium fructigenum, Gloeosporium fructigenum. Die Pilze wurden auf weißen Rüben, Kartoffeln, Äpfeln und einer synthetischen Nährlösung gezogen.

Die Enzyme wurden durch Extraktion gewonnen, teilweise wurden sie auch noch durch mehrfache Ausfällung mit Alkohol gereinigt. Zunächst wurde der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf die Aktivität des unter den verschiedensten Bedingungen hergestellten Enzyms von Botrytis festgestellt. Endo- und Exoenzyme, die sowohl aus gekeimten Sporen wie aus den Myzelien gewonnen waren, beide auf

flüssigen sowohl wie auf festen Substraten gewachsen, zeigten bezüglich ihrer Aktivität im Prinzip den gleichen Verlauf: Schwache Aktivität im alkalischen, sehr starke im sauren Gebiet, besonders zwischen den ph-Werten 3 und 4. Unter sich wichen die einzelnen Daten jedoch stark voneinander ab. Teilweise ähnlich lagen die Verhältnisse bei Monilia, Verf. bekam einmal ein Optimum, dann aber auch Umkehrung der Verhältnisse von Botrytis: Schwaches Arbeiten im sauren und starkes im alkalischen Gebiet. Dieses letztgenannte Verhalten wiesen auch die vier ubrigen Pilze auf. — Um den Einfluß von Pflanzensäften auf die enzymatische Tätigkeit zu untersuchen, verdünnte Verf. die verschiedenen Enzymlösungen mit Kartoffel-, Apfel- und Rübensaft. Im allgemeinen zeigten die einzelnen Lösungen eine Verzögerung, Wasser wirkte bei allen am schwächsten. Im übrigen war auch hier die Schwachung der Aktivität im einzelnen sehr verschieden, je nach der Art der Aufzucht der Pilze und der Herstellung des Enzyms.

Auf Grund seiner Untersuchungen findet Verf. die Ergebnisse von Chona bestätigt, kommt jedoch zu einer anderen Deutung. Er nimmt im Gegensatz zu Chona für alle Pilze dasselbe Enzym an und erklärt die Unterschiede im Verhalten der Aktivität gegen die verschiedenen ph-Werte der Lösungen aus der Methodik der Gewinnung. Es kommen Begleitsubstanzen vor, die Bestandteile der Nährlösung oder Stoffwechselprodukte sein könnten, die vielleicht adsorptiv gebunden sind. Als spezifisch verzögernd wirkende Stoffe nimmt Verf. Säuren und Salze an, man braucht sich nicht erst Dekokte herzustellen. Für $MgSO_4$ und K_3PO_4 hat er das auch experimentell bewiesen. Endoenzyme waren viel empfindlicher als Exoenzyme. Nicht nur die Eigenschaften der Enzyme, sondern auch die Bildung als solche waren von der Art der Nährlösung abhängig. Pythium und Phytophthora bildeten in Dekokten keine Pektinase, dagegen wohl auf pflanzlichem Gewebe. Damit in Übereinstimmung steht die Tatsache von Harter und Weimer, die bei Rhizopus tritici die Bildung von Pectinase auslösen konnten, wenn sie die Glukose der Czapekschen Nährlösung durch lösliches Pektin ersetzten. Skallau (Berlin).

v. Vagedes, K. und **Gildemeister, E.**, Vergleichende Untersuchungen über den Nachweis von Bakteriophagen in Wasserproben. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 131. 1934. S. 414—419.)

Der Bakteriophagennachweis nach dem Anreicherungsverfahren von Nyberg ist eine insbesondere zur Beurteilung von Trinkwasserproben geeignete Methode. Ihre Brauchbarkeit für die Praxis ist durch die vorliegenden Untersuchungen erneut bestätigt worden. Die Sicherheit des Nachweises von Bakteriophagen steigt mit der Zahl der zur Anreicherung verwendeten Kulturen. Vor allem empfiehlt es sich, außer geeigneten Colistämmen auch geeignete Shigakulturen heranzuziehen. Die besondere Empfänglichkeit von Shigabakterien für Bakteriophagen ist ja seit d'Herelle bekannt, und außerdem konnte Schloßmann gerade bei fäkalen Verunreinigungen des Wassers in erster Linie Bakteriophagen gegen Ruhrbazillen feststellen. Wenn bisher mehr oder weniger ausschließlich Colistämme zur Anwendung gelangten, so geschah das in der von Nyberg zuerst geäußerten Annahme, daß bestimmten Bakterien auch bestimmte Bakteriophagen entsprächen. Diese Wesenseigenheit der Bakteriophagen scheint jedoch, wenigstens für die Lysine im Wasser, für Coli- und Ruhrstämme nach den Erfahrungen der Verff. nicht zuzutreffen. Denn bei zahlreichen Beimpfungen mit Einzelstämmen hat sich gezeigt, daß die aufgefundenen Bakteriophagen ebenso wirksam gegen andere Coli- und Shigakulturen waren wie gegen den zur Anreicherung benutzten Stamm, ja, daß nicht selten die Wirkung gegen

die Anreicherungskultur versagte, gegen andere Stämme jedoch stark zutage trat. Wenn somit auch die hervorragende Eignung der Shigabakterien für den Lysinnachweis außer Frage steht, so ist doch anderseits bei einer Reihe von Wasserproben die Anreicherung mittels Colibakterien die allein wirksame gewesen. — Für die Art der Durchführung der Untersuchungen werden Richtlinien gegeben. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

den Dooren de Jong, L. E., Studien über Bakteriophagie. IV. Mitt.: Über Bacillus mycoides und den darin enthaltenen Bakteriophagen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 131. 1934. S. 401—410.)

Autophagieerscheinungen, bereits bei Vibrionen von Gajzágó und bei Kruse-Sonne-Stämmen von Klieneberger beobachtet, zeigten sich auch bei bestimmten Stämmen von Bac. mycoides und Bac. undulatus. Es wird auf die Irrtümer hingewiesen, die diese Erscheinung beim Phagennachweis im allgemeinen veranlassen kann. Daher ist es notwendig, bei derartigen Prüfungen immer einen Blankoausstrich (ohne Filtrat) zuzufügen. — Bakteriophagen, die aus Kulturflüssigkeiten erhalten wurden durch Beimpfung mit Sporen bestimmter Bazillenarten nach der Erhitzung auf eine für den Phagen in vitro vernichtende Temperatur, zeigten eine derartige Selektivität, daß es nie gelang, mit ihnen Lyse zu erregen in Mutilaten von Sporenbildnern, die zu einer anderen Art gehörten als die, von der der Phage herstammte. Der Angriff eines Mycoidesmutilates durch einen Undulatusphagen dürfte als Beweis gelten für die Identität von Bac. mycoides und Bac. undulatus. Der zweite Beweis besteht darin, daß der Bakteriophage von Bac. mycoides Phagie in den Sporen von Bac. undulatus zu induzieren vermochte und umgekehrt. Auch die Induktion eines Phagen ist nur in den Sporen eines homologen Bazillus möglich. — Die Tatsache, daß Bakteriophagen aus den Sporen korrespondierender Bazillenarten erhalten werden können nach sorgfältiger Pasteurisation bei Temperaturen, die für die Phagen in vitro vernichtend sind, wird als sicherer Beweis dafür angesehen, daß der Phage nicht eine autonome Ultramikrobe, sondern ein Produkt der lebenden Bakterienzelle ist.

V. Mitt.: Über das ungleiche Verhalten von Bakteriophagen, die aus pasteurisierten Sporen und solchen, die mittels der üblichen Anreicherungsmethoden gewonnen werden. (Ebenda, S. 411—413.)

Es wird auf die Unzuverlässigkeit jener Phagen hingewiesen, die auf andere Weise als aus erhitzten Sporen erhalten sind. Phagen, die z. B. durch Anreicherung mit Gartenerde erzielt wurden, wirkten nicht mehr spezifisch, sondern griffen auch heterologe Bazillenarten an.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Halversen, W. V., Cherrington, V. A., and Hansen, H. C., Laboratory methods for the detection of milk from cows infected with mastitis. (Journ. of Dairy Sci. Vol. 17. 1934. p. 281—296.)

Es sollten einfache Methoden gefunden werden, die genügend sicher sind, bei der gewöhnlichen Milchkontrolle im Laboratorium angewendet zu werden. Es wurden folgende ausprobiert: Bestimmung der Leukozytenzahl

durch direkte mikroskopische Zählung, Katalaseprobe nach Orla-Jensen, ph-Bestimmung mit der Chinhydronelektrode und der Bromkresolpurpur-Methode von Baker und van Slyke, Chlorbestimmung nach der Schnellmethode von Hayden. Keimzahlbestimmung nach der Plattenmethode (sowohl auf Standard- wie auch Glukose-Pferdeblutagar) und Bestimmung der Gerinnselfestigkeit. Ergebnisse: Während die akute Mastitis durchweg leicht zu erkennen ist, kann dagegen die chronische Mastitis so mild verlaufen, daß man sie kaum nachweisen kann. Sie ist die häufigste Form. Auf gewöhnlichem Agar tritt keine außergewöhnlich hohe Keimzahl auf, wohl aber auf Glukose-Pferdeblutagar. Der Leukozytengehalt ist höher als 100 000 pro ccm und die Katalaseprobe ergibt mehr als 2,5 ccm Gas nach der angewendeten Methode. Die Wasserstoffzahl ist nur leicht ins Alkalische verschoben, der Chlorgehalt normal und die Fähigkeit zur Gerinnung herabgesetzt. Als am zuverlässigsten zur Erkennung von chronischer Mastitis glauben Verff. die Katalaseprobe und die Bestimmung der Leukozytenzahl angeben zu können.

K. J. Demeter (München-Weihenstephan).

Hansen, H. C., Theophilus, D. R., Atkeson, F. W., and Gildow, E. M., Influence mastitis on the curd tension of milk. (Journ. of Dairy Sci. Vol. 17. 1934. p. 257—264.)

Zum Vergleich mit dem Ausfall der Gerinnselprobe wurden auch Keimzahlbestimmung auf Standard- und Blutagar, Leukozytenzählung, schwarze Seihtuchprobe und physische Untersuchung des Euters durchgeführt. Die durch Streptokokken verursachte Mastitis ließ durchweg eine Herabsetzung der Gerinnselfestigkeit der Milch erkennen, während dies bei Staphylokokkenmastitis nicht der Fall war. Die schwarze Seihtuchprobe erwies sich als ein vorzügliches Mittel zur Entdeckung von Streptokokkenmastitis, versagte aber bei Staphylokokkeninfektion. Zwischen dem Befund der klinischen Untersuchung und dem Ausfall der Gerinnselprobe konnte jedoch keine Beziehung gefunden werden.

K. J. Demeter (München-Weihenstephan).

Stockmayer, W., Kulturelle Untersuchungen über die Ausscheidung von Bangbazillen mit der Milch. (Arbeiten aus dem Reichsgesundheitsamte. Bd. 66. 1933. S. 301—320.)

Beim Studium über den Verlauf der Ausscheidung von Bang-Bazillen nach künstlicher Infektion einer Reihe von Versuchskühen wurden bei täglicher Kontrolle große Unterschiede bei den einzelnen Tieren festgestellt (unter Verwendung eines Elektivnährbodens aus Leber- oder Serumagar mit Gentianaviolett- oder Brillantgrünzusatz). Auch bei demselben Tier bestanden zwischen den Befunden an den einzelnen Tagen beträchtliche Verschiedenheiten. Der Brucella-Keimgehalt in 1 ccm Milch schwankte zwischen 0 und 10 000, im Eutersekret und in der Kolostralmilch stieg er bis auf 50 000 und vereinzelt darüber. Eine sichere Entscheidung über die Ausscheidung von Bang-Bazillen mit der Milch kann somit nur durch mehrmalige Untersuchung erlangt werden; ein einmaliger negativer Befund ist für das Fehlen einer Ausscheidung nicht beweisend. Der Gehalt der Milch an Bang-Bakterien nach dem Kalben konnte an 2 Kühen verfolgt werden. Bei dem einen Tier waren die Bang-Bakterien bereits vom 6. Tage p. p. an nicht mehr in der Milch nachweisbar, bei dem anderen Tier dagegen monatelang in beträchtlicher Zahl. Ob es nach der gebräuchlichen, aktiven Immunisierung schon infizierter Kühe zu einer vermehrten

Ausscheidung von Bang-Bakterien mit der Milch kommt, ließ sich nicht sicher entscheiden. — Quantitative Untersuchungen über die Möglichkeit einer Anreicherung durch Zentrifugieren ergaben, daß die größte Zahl der Bang-Bakterien zum Bodensatz geht und nur eine geringe Menge zum Rahm. Beim natürlichen Aufrahmungsprozeß enthält der Rahm die meisten Bang-Bakterien. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Verona, O., e Maccari, C., Sulla fermentazione del mosto di "Kaki". [Über die Gärung des Mostes von Diospyros Kaki.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 3. No. 54. 1931. 22 p., 1 pl.)

Nach einleitenden allgemeinen Angaben über Kaki und die Gewinnung des Fruchtsaftes wird eine regelmäßig darin vorkommende Hefe, Saccharomyces Diospyri n. sp., ausführlich beschrieben und abgebildet. Diese ergibt aber bei reiner Gärung keinen brauchbaren Obstwein, da u. a. der Alkoholgehalt zu gering bleibt. Sehr gute Ergebnisse brachte aber ein Zusatz von 1 Teil Traubenmost auf 3 Teile Kakimost.

Morstatt (Berlin-Dahlem).

Liese, W., Bakteriologische und biologische Versuche mit Benzoesäure und Benzoesäure-Derivaten. (Arbeiten aus dem Reichsgesundheitsamt. Bd. 66. 1933. S. 545—554.)

Es wird bestätigt, daß das Natriumbenzoat ganz erheblich geringere entwicklungshemmende Kraft besitzt als die Benzoesäure selbst. Sowohl in eiweißhaltigem wie in eiweißfreiem Material muß damit gerechnet werden, daß das Benzoat nicht halb so stark wirkt wie die freie Säure. Material das infolge seiner chemischen Beschaffenheit Benzoesäure zu einem Teil in Benzoat umzuwandeln vermag, kann deshalb auch durch Benzoesäure nicht mit Sicherheit haltbar gemacht werden.

Neben diesen Umsetzungsmöglichkeiten spielen Lösungsprozesse eine Rolle. Die schwer wasserlosliche Säure besitzt ganz ausgezeichnete Löslichkeit in Chloroform (was mit Fett- bzw. Lipoidlöslichkeit identisch ist), während umgekehrt das vorzüglich in Wasser lösliche Natriumsalz in Chloroform praktisch unlöslich ist. Das Natriumbenzoat ist deshalb — zum mindesten, wenn es sich um das Haltbarmachen von Lebensmitteln mit höherem Lipoidgehalt handelt — vom konserventechnischen Standpunkt aus günstiger zu beurteilen als die Benzoesäure; denn diese kann bei ihrer geringen Wasserloslichkeit, ihrer guten Fett- und Lipoidloslichkeit und durch die bei ihr bestehenden chemischen Umsetzungsmöglichkeiten unter Umständen nicht unerhebliche Unsicherheitsfaktoren mit sich bringen. Für beide Verbindungen (Säure und Benzoat) gilt schließlich noch, daß sie gelegentlich (in der Praxis allerdings wohl äußerst selten) als Kohlenstoffquelle im Verwendungsstoffwechsel der Mikroben Bedeutung haben könnten. Schimmelpilze z. B. vermögen mit Benzoesäure bis zu einem Gehalt von 0,1% als einziger Kohlenstoffquelle recht gut zu gedeihen. Ebenso verhalten sich wahrscheinlich manche Bakterienarten. — Von den Benzoesäure-Derivaten dürften für die Lebensmittelkonservierung lediglich die Ester (in erster Linie Propyl- und Äthylester) in Frage kommen.

Für das Gelingen einer Konservierung sind die Art und der Umfang der Infektion oder Verunreinigung des haltbar zu machenden Materials von größter Wichtigkeit. In wirtschaftlicher Hinsicht sind wohl die Hefen- und Schimmelpilzinfektionen die unangenehmsten. Dabei ist nun nicht gleichgültig, ob es sich um geringfügige Zufallsinfektionen handelt, die etwa während der Verarbeitung hineingelangen, oder ob die Infektion infolge unsauberen Arbeitens sehr massiv ist, oder ob gar ein von vornherein stark verunreinigtes Ausgangsmaterial vorliegt. Die naheliegende und bequeme Lösung, immer den ungünstigsten Fall anzunehmen und dementsprechend

möglichst hohe Konzentrationen anzuwenden, läßt sich mit den berechtigten Forderungen der Hygiene keineswegs in Einklang bringen. Eine solche Einstellung kann man wohl für die Konservierung technischer Erzeugnisse (wie Leim- und Gummifabrikate) zugestehen, nicht aber für die Konservierung von Lebensmitteln. Mit möglichst geringen Konzentrationen auszukommen, heißt für den Hersteller zugleich den Beweis für eine hygienisch einwandfreie Verarbeitung zu erbringen.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Fuchs, I., Über die Beeinflussung des Wachstums von Biersarzinen. (Tagesztg. f. Brauerei. Bd. 32. 1934. S. 788—789 und 796.)

Biere mit einem Gehalt an Sarzina wurden in je zwei sterile Fläschchen abgegossen, das eine wurde stets nur halb gefüllt und mit Watte verschlossen, das andere wurde ganz gefüllt und luftdicht verschlossen. Das Bier der halbgefüllten Fläschchen blieb blank, das Bier der ganzgefüllten wurde sarzinatrüb. Die Ursache der Trübung konnte nicht obligat-anaerobes Wachstum der Sarzina sein, denn diese gedieh in ammoniakalischer Würze bei Luftzutritt sehr gut. Da in den durch Sarzina getrübten Proben der Anteil an toten Zellen weit größer war, wurde angenommen, daß neben besonderen, durch den Luftabschluß für den Stoffwechsel der Hefe verursachten Bedingungen die Autolysate der Hefe an dem Aufkommen der Sarzina wesentlich mitbeteiligt waren. Man impfte in Haltbarkeitsfläschchen etwas vom Bodensatz eines sarzinahaltigen hellen Bieres ein und gab später etwas Hefenautolysat zu und erzielte damit Sarzinatrübung. Das gleiche war der Fall, wenn man in den Versuchsfläschchen die Hefe entweder durch Wärme oder durch Nahrungsmangel zum Autolysieren brachte. Die Rolle der Autolysate bei der Sarzinatrübung war damit experimentell bewiesen.

Zu anderen Versuchen vergor man eine helle Würze zu zwei verschiedenen Bieren, das eine hatte einen scheinbaren Vergärungsgrad von 66,5%, das andere von 83,2%. Wenn man diese Biere in verschlossenen Fläschchen mit Hefe und Sarzina versetzte, die in den damit befallenen Bieren keine Trübung verursacht hatte, so trat bei dem stark vergorenen Bier Sarzinaschleier auf, während das schwachvergorene Bier durch die weiterschreitende Gärung davor bewahrt blieb. In dem hochvergorenen Bier übte die Hefe keine Gärtätigkeit mehr aus, ein Teil der Zellen starb ab, ihre Autolysate kamen der Sarzina zugute. Die gleichen Resultate erzielte man mit verschieden hoch vergorenen dunklen Würzen. Die Versuche bewiesen die Richtigkeit der bekannten These, daß kräftige Gärung das beste Kampfmittel gegen die Sarzina ist.

Heuß (Berlin).

Haehn, H. und Leopold, H., Über die Beeinflussung der Hefeautolyse durch Antiseptika. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 51. 1934. S. 353—356.)

Die nach dem Tode der Hefe eintretende Selbstauflösung der Zelle, die Autolyse, wird durch verschiedene Enzyme bewirkt, deren Reaktionsgeschwindigkeit von verschiedenen Faktoren, wie Temperatur und ph abhängig ist. Bei künstlicher Autolyse bedient man sich zur Sicherung der Sterilität verschiedener Antiseptica, die ihrerseits wieder einen Einfluß auf die Enzymsysteme ausüben und je nach dem Zweck, den man bei der Autolyse verfolgt, ausgewählt werden müssen. Um hier Klarheit zu schaffen, haben Verff. die bekanntesten dieser Mittel in ihrer Wirkung auf bei 50 bis

52° C durchgeführte Autolysen studiert. Es wurden Toluol, Chloroform und Essigester gewählt; die Esterversuche konnten allerdings nicht immer zum Vergleich herangezogen werden, da sich durch Verseifung des Esters mit Hefeesterase oder durch allgemeine Hydrolyse der Säurewert nach oben verschob.

Einfluß der Antiseptika auf die Bildung von Säuren. Das ph verschiebt sich bei allen Autolysen nach der sauren Seite, die Verschiebung war — allerdings erhöht durch die Spaltung des Esters — am größten bei dem Versuch mit Essigester (E). Die Versuche mit Toluol (T) und Chloroform (C) zeigten nur eine sehr kleine Verschiebung, während die normale Autolyse W eine weit größere Abweichung aufwies. Für die Bildung von flüchtigen Säuren fand man die gleiche Reihenfolge. Die größte Menge Phosphorsäure entstand bei den Versuchen W und T, Chloroform und Essigester scheinen die Phosphatasen in ihrer Wirkung zu hemmen.

Einfluß der Antiseptika auf den Eiweißabbau. Die Versuche C und E ergaben bedeutend weniger Verdauungsprodukte als die Versuche W und T. Chloroform und Essigester verzögerten also den Abbau durch proteolytische Enzyme erheblich. Beim Essigester wirkt schon der reine Ester hemmend, die hemmende Wirkung wird durch die im nicht gereinigten Ester vorhandene Essigsäure noch verstärkt.

Autolysen im alkalischen Medium. Wie nur mit Toluol vergleichsweise durchgeführte Versuche zeigten, übt dieses Antiseptikum eine geringe hemmende Wirkung aus.

Nach beendeter Autolyse war im Normalversuch aller Hefen Phosphor in Lösung gegangen. Der gelöste Phosphor aber ist nur zu 60—80% in anorganische Säure übergegangen. Die Bildung von Formolstickstoff war erwartungsgemäß in den normalen Ansätzen am stärksten, da ja die Dipeptidase durch stärkeres Alkali gehemmt wird. Heuß (Berlin).

Mendlik, F., Oxydations-Reduktionspotentiale im Bier. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 51. 1934. S. 305—307.)

Zwischen dem rh und Hefetrübungen bestehen gewisse Zusammenhänge. Wenn eine Bierprobe zugesetztes Methylenblau am 4. Tag noch nicht entfärbt hatte, so war an diesem Tag meistens auch schon eine Hefetrübung zu sehen, umgekehrt aber konnte man auch manchmal am 5. oder 6. Tag Hefetrübungen in Bierproben sehen, die Methylenblau entfärbt hatten. Die Tatsache der Entfärbung von Methylenblau schließt also die Gefahr der Hefetrübung nicht aus, sondern verringert sie nur. Das rh allein ist ja auch nicht der einzige Faktor für die Hefetrübung. Man kann sich die Sachlage so vorstellen, daß die Hefe für den Aufbau ihrer Zellen Energie braucht und diese Energie aus der Gärung, also der Umwandlung von Zucker in Alkohol und Kohlensäure, bezieht, wenn genügend vergärbarer Zucker vorhanden ist; das rh des Milieus kann dabei niedrig sein, die Hefe wächst trotzdem ganz gut. Wenn aber keine nennenswerten Mengen vergärbarer Zucker mehr anwesend sind, so hat diese Energiequelle aufgehört zu bestehen, und die Hefe kann die notwendige Energie nur noch durch Atmung oder besser gesagt durch Oxydation oxydabler Körper erlangen; wenn nun aber das rh, also das Oxydationspotential niedrig ist, so fällt auch diese Energiequelle fort und die Vermehrung wird gehemmt. Wenn de Clerck bei seinen Untersuchungen zu dem Schluß kam, daß niedriges rh die Gefahr einer Hefetrübung ausschließt, so hat er vermutlich mit Bieren von hohem

Vergärungsgrad gearbeitet, die praktisch keinen vergärbaren Zucker mehr enthielten, in diesem Fall wird dann das rh das Maßgebende sein. Zur Verhinderung von Trübungen durch nachträgliches Wachstum der Hefe sind also zwei Punkte zu beachten: niedrigster Gehalt an vergärbarem Zucker und weitgehende Beschränkung der Belüftungsmöglichkeiten, da Bier gegen Luft überaus empfindlich ist. Heuß (Berlin).

Haehn, H., Atmung und Gärung. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 51. 1934. S. 313—316.)

Bei der eigentlichen Sauerstoffatmung wird nicht das Zuckermolekül als solches angegriffen, sondern erst die durch anaeroben Abbau entstandenen Zwischenprodukte. Der Atmung geht also eine Gärung voraus, mit anderen Worten: Die Gärung ist als Vorstufe der Atmung aufzufassen. Atmung und Gärung sind keine verschiedenen Reaktionen, sondern die Komponenten des einen großen Dissimilationsprozesses, der die Substrate in erster Linie zum Zweck der Energiegewinnung spaltet. Die beiden in Korrelation stehenden Prozesse dienen also der Energieversorgung der Zelle, wobei der Abbau des Metaboliten in ein und derselben Zellart für Atmung und Gärung derselbe ist. Für den Atmungsprozeß geht der Weg also nicht direkt vom Substrat zu den Endprodukten, es sind Zwischenkatalysatoren notwendig, deren Bedeutung in der Regelung der Redoxpotentiale zu liegen scheint. Es muß erst für den Substratwasserstoff ein Potential geschaffen werden, das mit dem Atmungsenzym harmoniert. Die verschiedenen Heferassen haben bei normalem Wachstum ein Potentialniveau, das dem natürlichen Verhältnis von Atmung zu Gärung entspricht. Da sie sich im Gär- und Atmungsvermögen unterscheiden, haben sie auch verschieden hohe Potentiale, man kann deshalb auch aus dem auftretenden Potentialniveau einer Hefe auf ihren Stoffwechseltypus, d. h. auf das Verhältnis von Atmung zu Gärung schließen. Die Zwischenkatalysatoren, mit deren Hilfe die Umladung des Potentials erfolgt, sind von größter Wichtigkeit, fehlen sie, so muß im ganzen Stoffwechsel eine heftige Störung auftreten. Als Zwischenkatalysatoren fungieren die Vitamine und die natürlichen Zellfarbstoffe, z. B. das Cytochrom der atmenden Zelle oder andere Farbstoffe, wie sie verschiedentlich aus Mikroorganismen isoliert wurden. Der genetische Zusammenhang zwischen Atmung und Gärung ist damit erwiesen, die Klärung des Chemismus dagegen erfordert noch umfangreiche Studien. Heuß (Berlin).

Mikrobiologie des Düngers, Bodens, Wassers und Abwassers.

Bodenheimer, F. S. und **Reich, K.**, Studies on soil protozoa. (Soil Science. Vol. 38. 1934. p. 259—265.)

Untersucht wurde der Boden eines Weizenfeldes auf dem Mount Scopus in der Nähe von Jerusalem. Es handelte sich um einen gelbbraunen, humusfreien, von zahlreichen Kalksteinfragmenten durchsetzten Boden von schwach alkalischer Reaktion. Der primitiv bearbeitete, ohne jede Düngung gebliebene, dürftige Boden war sehr arm an Protozoen, sowohl was die Zahl der Arten als auch die Gesamtmenge anbelangt. Es wurden im Durchschnitt nur etwa 11—12 Arten angetroffen: 1 Ciliate, 4 Flagellaten und 6 Rhizopoden. In den Regenmonaten war naturgemäß die Zahl der Protozoen am höchsten, in der Trockenzeit sehr gering. Die Methode von Cutler zur Unterscheidung von Cysten und aktiven Individuen, nach der die Behandlung des Bodens mit 2 proz. HCl nur die Cysten lebensfähig läßt, die

aktiven Zellen dagegen abtötet, erwies sich als unbrauchbar. Es zeigte sich, daß hierbei die Menge der beobachteten Cysten in hohem Maße von der Temperatur abhängig war, bei der die Salzsäure einwirkte, indem z. B. bei 25° C oft nur ein Bruchteil der Cystenmenge bei 10° C gezählt wurde. Weitere Versuche zeigten, daß auch der Grad der Austrocknung des Bodens für die Thermotoleranz der Cysten von entscheidender Bedeutung sein kann. Im 2 Monate lufttrocken gelagerten Boden starben die Cysten bei 80—85° C ab, in feuchtem Boden aber schon bei 50—65°.

Engel (Berlin).

Ferretti, C., Copertura del terreno e attività batteriche. [Bodenbedeckung und Bakterientätigkeit.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 3. No. 51. 1931. 26 p., 2 pl.)

Nach Erwähnung verschiedener Methoden zur Erhaltung der Bodenfeuchtigkeit, wie mulching und dry-farming, wird über Versuche mit Bodenbedeckung durch Asphaltpappe berichtet. Dabei wurden Feuchtigkeit, Temperatur und Bakterienzahl bestimmt; es zeigte sich, daß der Bakteriengehalt in 5 cm Tiefe auf das Vierfache gestiegen war, während bei 20 cm kein merklicher Unterschied mehr herrschte, und daß die Stickstoffbindung dementsprechend zugenommen hatte. Bei einer Anzahl von praktischen Kulturversuchen ergab sich bei Obstbäumen keine Ertragssteigerung gegenüber 1jährigen Kulturen, bei denen die Rentabilität der Methode nachzuweisen war. Morstatt (Berlin-Dahlem).

Perotti, R., Attivazione fisiologica od inoculazione di forme nel terreno coltivabile? (Nota complementare.) [Physiologische Aktivierung oder Impfung von Kulturböden.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 3. 1933. No. 75. 6 p.)

In Fortsetzung früherer Versuche wurde die für die Bodenbakteriologie grundlegende Frage untersucht, ob die Bodenimpfung mit spezifischen Organismen oder die Förderung des Wachstums der normalerweise vorhandenen zur Steigerung der Organismenwirkung zweckmäßiger ist. Die Nährstoffzufuhr wurde durch Untergraben von Nichtleguminosen mit fleischiger Wurzel und raschem Wachstum, die zweckmäßig in den Fruchtwechsel eingeschaltet werden, gegeben. Diese Zwischenfrucht wurde teils abgeerntet, teils ganz untergegraben und im folgenden Jahre Weizen auf den Parzellen gezogen. Der Ertrag desselben entsprach direkt dem Ergebnis der wiederholt durchgeführten Bestimmungen des Mikroorganismengehaltes des Bodens und bestätigte die Überlegenheit einer Wachstumsförderung der Bodenorganismen gegenüber der Bodenimpfung. Morstatt (Berlin-Dahlem).

Ornstein, G., Erfahrungen mit der Chlorbehandlung von Brauereiwasser. (Tagesztg. f. Brauerei. Bd. 32. 1934. S. 669—673.)

Die Entkeimung des Wassers durch Chlorgas mit Hilfe der Chloratorapparaturen wird in vielen Brauereien mit Erfolg durchgeführt. Die Anlagen werden mit Chlorgas aus Stahlflaschen, die handelsmäßiges, verflüssigtes Chlor enthalten, gespeist, der Chlorzusatz kann genau reguliert werden. Für Wasch- und Spülzwecke ist es vorteilhaft, das Wasser zu überchloren, damit es antiseptisch wirkt, also mit einem Chlorüberschuß zu arbeiten,

der kolorimetrisch leicht kontrolliert werden kann. Bei Trinkwasser rechnet man für gewöhnlich mit einem geschmacklich nicht mehr erkennbaren Chlorüberschuß von 0,02—0,1 mg/l, im Brauereibetrieb ist ein höherer Chlorüberschuß von Vorteil, weil die Brauereischädlinge gegen Chlor widerstandsfähiger sind als die bei der Trinkwassersterilisation in erster Linie abzutötenden pathogenen Keime. So benötigen Sarzinen einen Chlorüberschuß von mindestens 0,2 mg/l, Stäbchen 0,2—0,3 mg/l und Schimmelpilze etwa 0,3 mg/l.

Bei ordnungsmäßiger Chlorung werden die Brauereischädlinge — Sarzinen, Stäbchen, Kokken, wilde Hefen — zuverlässig abgetötet, ohne daß nachteilige Einflüsse in Erscheinung treten, auch bei der Hefewäsche und Flaschenreinigung wird chloriertes Wasser mit Erfolg verwendet. Weitere Anwendungsgebiete sind in der Behandlung der Kühlwasserkondensatoren — evtl. zur Verstärkung der Wirkung mit Kupfer kombiniert — zur Verhinderung der Algenbildung und bei der Eisbereitung gegeben.

Heuß (Berlin).

Kiby, W., Reinigung von Abwasser der Preßhefefabrikation. (Chemiker-Ztg. Bd. 58. 1934. S. 600—603.)

Verf. beschreibt eine Abwasserreinigungsanlage, die nach dem Verfahren der „Aktieselskabet Dansk Gaeringsindustri“ in Kopenhagen arbeitet und das ganze Abwasser einer Preßhefefabrik so reinigt, daß es frei von Fäulnis- und abbaufähigen Stoffen als klare, noch bräunliche Flüssigkeit die Kläranlage verläßt und dem Vorfluter zufließt. An Stelle der bisher in solchen Fällen üblichen biologischen Reinigung auf aerober Grundlage wird bei diesem Verfahren eine anaerob verlaufende Vergärung der im Abwasser gelösten Verunreinigungen durch Bakterien angewendet, die enzymatisch besser ausgerüstet sind als Hefenpilze, so daß sie die von der Hefe begonnene Mineralisierung der organischen Bestandteile der Melasse weiterführen können. Es entstehen beträchtliche Mengen Gas von hohem Brennwert, dagegen nur wenig Schlamm. Das Verfahren arbeitet in drei Teilen. In Abteilung 1 wird das Abwasser aerob mittels geeigneter Bakterien gereinigt. In Abteilung 2 stehen eine Reihe von Becken, die eine Art Übergangsglied zur nachfolgenden aeroben Behandlung in biologischen Filtern bilden. In Abteilung 3 sind Berieselungsfilter tätig, in denen die Reinigung aerob zu Ende geführt wird.

Heuß (Berlin).

Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz im allgemeinen.

Perotti, R., Note fitopatologiche per gli anni 1929—1931. [Phytopathologische Bemerkungen zu den Jahren 1929—1931.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 3. No. 60. 1932. 35 p., 4 figs.)

Nach einleitender kurzer Witterungsübersicht werden erwähnt: Getreidekrankheiten, insbesondere Rost- und Brandpilze; Krankheiten von Gemüse, Obst, Oliven, Weinreben und Zierpflanzen. Außerdem wird über die Untersuchung von Pflanzenschutzmitteln (Schwefel, kolloidales Aluminium, Beizmittel) und über die Tätigkeit des Pflanzenschutzdienstes mit Angabe der erschienenen Veröffentlichungen berichtet. Ein größerer Teil der erwähnten Arbeiten ist schon ausführlicher in früheren Heften der „Memorie“ veröffentlicht.

Morstatt (Berlin-Dahlem).

Verona, O., Conspectus mycetum agri pisani. (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 3. No. 62. 1932. 50 p.)

Systematische Liste von 534 Pilzen der Umgebung von Pisa mit Angaben über das Vorkommen und Registern der Wirtspflanzen und der Gattungen. Morstatt (Berlin-Dahlem).

Verona, O., Note mycologiche sulle Pandanacee. (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 3. No. 63. 1932. 32 p., 9 figs.)

Eine systematische Liste der bisher an Pandanaceen beobachteten Pilze. Unter den 90 aufgeführten Arten werden als neue nach Material aus der Südsee beschrieben und abgebildet: Metasphaeria Christophersenii, Dimerosporium Pandani, Phoma fructus-Pandani, Phoma Martellii, Ceuthospora Pandani, Coniothyrium Perottianum, Gloeosporium Pandani, Pestalozzia Pandani und Pestalozzia Peyronelii. Morstatt (Berlin-Dahlem).

Verona, O., e Bruschi, G., Su di alcuni nuovi prodotti anticrittogamici a base di mercurio e tannini sintetici. [Über einige neue antikryptogame Mittel mit Quecksilber und synthetischen Tanninen.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 3. No. 59. 1932. 21 p.)

Eine Anzahl von Präparaten, die auf Veranlassung von Prof. Casaburi hergestellt waren und die — ohne genaue Angabe der Zusammensetzung — Quecksilber, Kupfer, Eisen, Arsen und Paradichlorbenzol enthielten, wurde auf ihre Wirkung als Fungizide und als Beizmittel geprüft. Es ergab sich keine wesentliche Veränderung der Keimfähigkeit und keine praktisch wichtige Wirkung auf Bakterien, dagegen bei einigen eine entschiedene Wirkung gegen Tilletia und Ustilago im Laboratoriums- und Feldversuch und auch eine leicht stimulierende Wirkung. Ein verbessertes Präparat. das hauptsächlich Hg, Cu, Fe und synthetische Tannine (Methylendinaphtholsulfone) in Emulsion mit Cerofob-Para (Dray-Tan) enthält, wurde darauf von Casaburi unter dem Namen „Uni-Dea" hergestellt.

Morstatt (Berlin-Dahlem).

Baldacci, E., Studi sulla fitoimmunità acquisita attiva. [Studien über erworbene aktive Immunität bei Pflanzen.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 3. No. 66. 1932. 13 p., 5 pl.)

Die Arbeit ist ein Beitrag zur Klärung der Frage nach dem Mechanismus der erworbenen aktiven Immunität. Nach Haumann sollte das Ausbleiben der Infektion nicht durch eine histogene Reaktion der Pflanze, sondern einfach durch die aufgenommene Kulturflüssigkeit bedingt sein. Demgegenüber hatte Jarach (Phytopathol. Ztschr. Bd. 4. 1932. S. 315 bis 326) aus seinen Versuchen mit Botrytis cinerea an Bohnenkeimpflanzen geschlossen, daß die vakzinale Immunität eng an das Leben der Pflanze gebunden und histogener Natur sei. Verf. arbeitete mit Acrostalagmus cephalosporioides, Macrosporium commune, Aspergillus niger und Botrytis cinerea, die in Nährlösung kultiviert wurden, und verwendete als „Vakzine" Chamberlandfiltrat der Kulturflüssigkeit, Filtrat nach Verreiben des Myzels mit Sand und den Rückstand des Myzels mit Sand. Darin ließ er Samen von

Gentil-rosso-Weizen, Luzerne und Klee keimen. Nur die nach der ersten Methode hergestellten Vakzine verzögerten die Keimung; Verdünnung der Impfflüssigkeit verringerte die Keimverzögerung. Auch in Wasser gekeimte Weizenkeimlinge wuchsen nach Übertragung in das Filtrat von Botrytis sehr langsam, konnten aber später in frischer Knop scher Lösung wieder mit Ausnahme der in unverdünnter oder in mit gleicher Menge Wasser verdünnter Vakzine gewachsenen zu lebhaftem Wachstum gebracht werden. Nach 14 Tagen wurden sie dann mit einer jungen Kultur von Botrytis geimpft, wobei alle erkrankten. Ähnliche Ergebnisse hatten die Versuche mit Acrostalagmus und Macrosporium. Somit ist die Annahme einer spezifischen erworbenen Immunität nicht bestätigt worden.

Morstatt (Berlin-Dahlem).

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und filtrierbare Vira.

Verona, O., Sul cosidetto "vaiolo" del Cavolfiore. [Über die sogenannten „Pocken" des Blumenkohles.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 3. No. 64. 1932. 8 p., 1 pl.)

Es handelt sich um kleine, runde oder rundliche schwarze Flecke am Kopf des Blumenkohls, die im weiteren Verlauf zu einer Fäule führen und ihn schon in leichten Fällen zur Ausfuhr unbrauchbar machen. Die Krankheit, die besser „nerume" (Schwärze) zu nennen wäre, scheint überwiegend von Alternarien verursacht zu sein; sie kann aber auch von anderen Pilzen wie Aspergillus niger, Macrosporium commune, Cladosporium herbarum hervorgerufen werden. Zum Vergleich wird eine Anzahl von anderen Krankheiten erörtert, bei denen ebenfalls gleiche Symptome von verschiedenen Pilzen verursacht werden.

Morstatt (Berlin-Dahlem).

Perotti, R., e **Bonucelli, G.**, Rapporti tra involuzionismo e virulenza nei riguardi del' „Macrosporium commune" Rabh. [Berichte über Involutionsformen und Virulenz bei M. commune.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 2. Nr. 28. 1929. 21 p., 3 Tab.)

Die Beziehungen zwischen Involution und pathogener Fähigkeit bei Formen von Macrosporium werden dargelegt, wobei die letztere bei den Involutionsformen gegenüber den normalen vermindert ist. Die Verminderung zeigt sich in der Verlangsamung des parasitären Angriffs, der aber dennoch im Verlauf der Entwicklung der Wirtspflanze bis zum Absterben derselben führen kann. Die Involutionsformen des Pilzes verloren ihre Wirkung in den untersuchten Fällen nicht, wogegen die Resistenz der Pflanze je nach ihrem Alter wechselt und in den letzten Entwicklungsstadien geringer, während der Hauptwachstumszeit aber größer ist. Nach der ursprünglichen Verminderung des parasitären Angriffs tritt bei gleichbleibenden Außenbedingungen in der Regel eine allmähliche Steigerung der Virulenz ein. Morstatt (Berlin-Dahlem).

Leach, L. D., and **Borthwick, H. A.**, Distribution of downy mildew in spinach fruits. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 1021—1025, 2 figs.)

Verff. untersuchten die Verteilung des Myzels von Peronospora effusa in den Früchten von Spinacia oleracea. Hyphen wurden

im Kelchgrund, im Funiculus, im Integument und im Nucellus gefunden. Das Myzel dringt in die Samenanlage durch den Funiculus in das Integument ein. In dem Nucellus wächst das Myzel durch die Chalaza. Obwohl Myzel in der Samenanlage nachgewiesen wurde, kann nicht gesagt werden, ob die Krankheit durch den Samen übertragen wird, da infizierte Samen gesunde Sämlinge brachten. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Bonuccelli, G., Circa il presunto valore antimicrobico dei composti di alluminio colloidali. [Über die angebliche fungizide Wirkung von Mitteln mit kolloidalem Aluminium.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 3. No. 58. 1931. p. 26, 6 figs.)

Als Mittel gegen Peronospora an Stelle von Kupferkalkbrühe war ein Präparat mit kolloidalem Aluminium unter dem Namen „Italia" in den Handel gebracht worden. Es besteht aus einer künstlich gefärbten Paste, die 12—14% Al_2O_3, 12% CaO und 21% Cl enthält. Schon bei den ersten Versuchen zur Peronospora-Bekämpfung ergab sich ein gleich starker Befall wie bei der unbehandelten Kontrolle, während die Krankheit bei gleichzeitig angewandter Kupferkalkbrühe nur in Spuren auftrat. Dasselbe Ergebnis hatten auch anderwärts angestellte Versuche. Anschließende Untersuchungen an Bakterien- und Pilzkulturen zeigten ebenfalls die Wirkungslosigkeit des Präparates. Morstatt (Berlin-Dahlem).

Verona, O., Sul marciume del colletto dei Garofani. [Über die Fußkrankheit der Nelken.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 3. No. 65. 1932. 7 p.)

Bei der Untersuchung dieser Fusariose, die seit einigen Jahren in den Nelkenkulturen erheblich zugenommen hat, ergab sich als Erreger nicht das bekannte und sonst beobachtete Fusarium Dianthi, sondern F. herbarum (Cda.) Fr. Zur Bekämpfung wird nach Lindegg empfohlen, den Fuß der Pflanzen mit einer Mischung von gleichen Teilen Eisensulfat und Ätzkalk zu bestreuen und die organische Düngung einzuschränken. Morstatt (Berlin-Dahlem).

Verona, O., Nuovi micromiceti su Pandanacee. [Neue Pilze auf Pandanaceen.] (Mem. Lab. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 3. No. 56. 1931. 4 p., 3 figs.)

Es werden beschrieben und abgebildet: Phomatospora Pandani n. sp. auf trockenen Blättern von Pandanus pedunculatus R. Br. var. Stradbrookeana Martelli aus Südaustralien; Phoma Pandani n. sp. auf trockenen Blättern von P. odoratissimus L. von der Insel Nukuhiwa (Marquesas-Inseln); Macrophoma Pandani (Lév.) Berl. et Vogl. auf trockenen Früchten von P. odoratissimus L. und Freycinetia Dalmasiana Mart. derselben Herkunft. Morstatt (Berlin-Dahlem).

Wormald, H., The development of scab in stored apples. (Journ. Min. Agriculture London. Vol. 41. 1934. p. 551—556.)

Schorfbefall zeigt sich manchmal an Äpfeln im Winterlager, obwohl bei der Ernte keinerlei Infektion festzustellen war. Verf. berichtet über einen besonders schweren Fall an Äpfeln der Sorte Bismarck. Im Aussehen

weisen die am Baum und im Winterlager durch Venturia inaequalis verursachten Flecken bedeutende Unterschiede auf, so daß oft eine falsche Diagnose gestellt wird. Verf. beschreibt ihre Form eingehend an Hand guter Abbildungen. Unter der Lupe sind die Pusteln mit den Konidien des Pilzes meist unschwer zu finden. Zur Vermeidung des Lagerschorfs wird eine möglichst späte Spritzung empfohlen sowie Ausschluß feuchter Äpfel von der Lagerung. Braun (Berlin-Dahlem).

Koch, K. W., Investigations on black knot of plums and cherries. I. Development and discharge of spores and experiments in control. (Scientific Agriculture. Vol. 13. 1933. p. 576—590.)

Da in Ontario Askosporen die wichtigste Quelle der primären Infektion von Obstbäumen durch Dibotryon morbosum (Schw.) T. et S. zu sein scheinen, hat Verf. 4 Jahre hindurch eingehende Untersuchungen über ihre Entwicklung und Verbreitung durchgeführt. Die erste Entleerung der Askosporen auf Prunus domestica erfolgte im Freiland zwischen dem 23. 3. und 6. 4. und weiterhin in Abständen bis zum 6. 6. Perithezien, die ins Laboratorium gebracht wurden, entleerten die Askosporen 1½ Monate früher, solche, die von Prunus pennsylvania stammten, sogar schon am 20. 11. Im Freiland scheinen in erster Linie die Niederschläge maßgebend zu sein. Ein Absinken der Temperatur auf unter 4,5° C scheint die Entleerung zu mindern; reichlich wurde sie im Laboratorium zwischen 10 und 22° C beobachtet. Die Verbreitung der Askosporen geschieht durch den Wind. Für die Konidien scheint daneben die Feuchtigkeit noch von Bedeutung. Sie wurden den ganzen Sommer hindurch auf den schwarzen Knoten der Bäume gefunden. Die Krankheit konnte erfolgreich bekämpft werden durch einmaliges Spritzen mit Schwefelkalk 1 : 8 oder Bordeaux-Ölemulsion (3%) während der Winterruhe und weiteres zweimaliges Spritzen mit Schwefelkalk 1 : 40. Gute Erfolge werden auch mit Ausschneiden der Knoten erzielt. Braun (Berlin-Dahlem).

Meyer-Hermann, K., Die Tomatenfäule und ihre Bekämpfung. (Dtsch. Landw. Presse. Bd. 61. 1934. S. 141—142.)

Bei Tomatenpflanzen, die von der durch Didymella lycopersici verursachten Stengelfäule befallen waren, konnte die Krankheit, wenn sie sich unmittelbar über dem Boden zeigte, durch Bepinseln mit 1 proz. Uspulunlösung und Anhäufeln mit feuchter Erde bis über die kranke Stelle, wenn sie an anderen Stellen der Pflanze auftrat, durch Bepinseln mit 1 proz. Uspulunlösung und durch Bestreichen mit Lehmbrei, dem 1% Uspulun zugesetzt war, wenigstens zurückgehalten werden. Bei Pflanzen, die noch gesund erschienen, trat nach Bepinseln des unteren Stengelteiles mit Uspulun die Krankheit nicht auf. Während die Sorte „Lukullus" und eine Lokalsorte sehr stark befallen wurde, blieb die Sorte „Westlandia" von der Krankheit verschont. Verf. empfiehlt zur Bekämpfung der Krankheit folgende Maßnahmen:

Beizen des Samens mit Uspulun oder Ceresan (Beizung mit Uspulun ist nicht anzuraten, da dieses Mittel leicht Keimschäden verursacht! D. Ref.). Gesunde oder desinfizierte Anzuchterde verwenden. Eintauchen der Wurzeln bei Verpflanzen in 0,25 proz. Uspulunlösung. Wiederholtes Bepinseln der mittleren und unteren Stengelteile mit 1 proz. Uspulunlösung. Bei den

ersten Anzeichen der Krankheit befallene Stellen mit Uspulun bepinseln und anhäufeln oder mit Lehmbrei bestreichen. Reichliche Lüftung, am besten unterirdische Bewässerung. Anbau nicht anfälliger Sorten. Aufzucht an Drähten statt an Pfählen. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Nisikado, Y., Matsumoto, H., and Yamauti, K., Studies on a new Cephalosporium, which causes the stripe disease of wheat. (Berichte des Ohara Instituts f. landw. Forschungen. Bd. 6. 1934. S. 276—306, 18 Abb.)

Verff. berichten über eine Streifenkrankheit des Weizens, bei der sich ähnlich wie bei der Streifenkrankheit der Gerste Ende März bis Anfang April auf den Blättern und Blattscheiden gelbe oder gelbbraune Streifen zeigen. Ende Mai beginnen die kranken Pflanzen abzusterben. Als Erreger wird Cephalosporium gramineum Nisikado et Ikata beschrieben. Der Pilz wächst gut auf verschiedenen Nährböden. Die optimale Temperatur ist 20—24° C, die maximale 29—30° C, die minimale 6° C. Wachstum wurde beobachtet bei ph 4 bis ph 9. Die Übertragung erfolgt hauptsächlich durch das Stroh und die Stoppeln, zum geringsten Teil durch das Saatgut und den Boden. Frühe Aussaat im Herbst begünstigt das Auftreten der Krankheit. Die Konidien des Erregers sind sehr widerstandsfähig gegen Hitze. Sie werden durch Sublimat 1 : 8000 1 Std. tauchen, Uspulun mit Germisan 1 : 400 ½ Std. tauchen, abgetötet. Ziemlich unempfindlich sind sie gegen Kupfersulfat und Formalin. Außer Weizen wurde auch Gerste, Wildhafer und andere Gramineen befallen. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Dennis, R. W. G., A new species of Pestalotia on Podocarpus. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 1026—1028, 1 fig.)

Verf. beobachtete im Herbst 1932 im Glasgower Botanischen Garten Blattflecken auf Podocarpus elongata. Der Erreger wird als Pestalotia Podocarpi sp. nov. beschrieben.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Snyder, W. C., A leaf, stem and pod spot of pea caused by a species of Cladosporium. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 890—905, 3 figs.)

Verf. beschreibt eine in Kalifornien häufige Krankheit an Pisum sativum, die an Blättern bräunliche, durch eine schwarzbraune Linie begrenzte Flecken hervorruft. An den befallenen Stengeln zeigen sich braune bis schwarze Flecke von verschiedener Größe. Auf den Hülsen äußert sich die Krankheit in dunkelbraunen bis schwarzen erhabenen Flecken. Als Erreger wird Cladosporium pisicolum n. sp. beschrieben. Bei hoher Luftfeuchtigkeit und mäßiger Temperatur wird die Krankheit 3—7 Tage nach der Infektion sichtbar. Anfällig sind nur die wachsenden jungen Gewebe. Alle 29 geprüften Sorten von Pisum sativum erwiesen sich als anfällig, wenn auch in verschiedenem Maße. Nicht befallen wurden Vigna sinensis, Lathyrus odoratus und Vicia faba.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Guba, E. F., Control of the Verticillium wilt of eggplant. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 906—915, 2 figs.)

Gegen die Verticillium-Welke der Eierpflanze (Solanum melongena) zeigte keine vom Verf. untersuchte Sorte Resistenz. Der Erreger wird nicht mit dem Saatgut übertragen. Der geringste Befall wurde bei

Anbau auf altem Rasen mit einem ph unter 5 beobachtet. Der Anbau von neuen Flächen in jedem Jahr auf altem Rasen ist nach Ansicht des Verf.s die einzige Möglichkeit, die Krankheit zu bekämpfen. Im Gewächshaus hatte die Anwendung von Aluminiumsulfat oder Schwefel Erfolg. Die Anwendung dieser Mittel im Freiland hatte jedoch keinen Wert.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Walter, J. M., The mode of entrance of Ustilago zeae into corn. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 1012—1020, 2 figs.)

Verf. gibt zunächst an, daß der Verlust durch Beulenbrand in den Vereinigten Staaten jährlich 2% der gesamten Maisernte beträgt. Verf. untersuchte das Eindringen von Ustilago zeae in die Pflanze. Sowohl Chlamydosporen wie auch Sporidien durchdringen mit ihren Keimschläuchen die Epidermis des jungen Gewebes. Die Untersuchungs- und Färbemethoden sind eingehend beschrieben.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Gaßner, G. und Hassebrauk, K., Über Spargelrost und seine Bekämpfung. (Dtsch. Landw. Presse. Bd. 61. 1934. S. 215—216, 2 Abb.)

Verff. konnten durch Bespritzen bzw. Bestäuben mit kupferhaltigen Mitteln keine nennenswerte Herabsetzung des Spargelrostes erzielen. Da sich in den letzten Jahren auch gezeigt hat, daß rostfeste Sorten noch nicht vorhanden sind, ist die Beseitigung des Spargelkrautes immer noch die wichtigste Maßnahme zur Einschränkung von Spargelrostepidemien.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Fraser, W. P., and Ledingham, G. A., Studies of the crown rust, Puccinia coronata Corda. (Scientific Agriculture. Vol. 13. 1933. p. 313—323.)

Auf Grund umfangreicher Versuche kommen Verff. zu dem Schluß, daß es in Kanada vier spezialisierte Formen von Puccinia coronata gibt, die sie als Avena, Calamagrostis, Bromus und Elaeagnus bezeichnen. Die Äzidien treten auf Rhamnus cathartica bzw. Rhamnus alnifolia bzw. Lepargyraea canadensis bzw. Elaeagnus auf, die Uredo- und Teleutosporen auf Kulturformen von Avena und A. fatua bzw. auf Calamagrostis und Scolochloa festucacea bzw. hauptsächlich auf Bromus ciliatus, B. latiglumis, B. porteri bzw. auf Calamagrostis elongata.

Braun (Berlin-Dahlem).

Greaney, F. E., Experiments on the control of oat rusts by sulphur dust. (Scientific Agriculture. Vol. 13. 1933. p. 426—434.)

Verf. hat in den Jahren 1929 und 1930 mehr oder weniger stark mit Puccinia graminis avenae Erikss. et Henn. und P. coronata avenae Erikss. et Henn. befallene Haferbestände erfolgreich mit Schwefel bestäubt. 1930 ist der Befall künstlich im Freiland hervorgerufen worden und fiel außerordentlich stark aus. Die Bestäubungen wurden wöchentlich oder alle 2—3—4 Tage durchgeführt mit je 17 oder 34 oder 50 kg je ha. Die Ertragssteigerung betrug bis zu 153%. Weitere Feststellungen ergaben, daß einem Rostbefall von 10% ein Ertragsausfall von etwa 7% entsprach. Braun (Berlin-Dahlem).

Gordon, W. L., A study of the relation of environment to the development of the uredinal and telial

stages of the physiologic forms of Puccinia graminis avenae Erikss. et Henn. (Scientific Agriculture. Vol. 14. 1933. p. 184—237.)

Ein kurzer Überblick über die Spezialisierung von Puccinia graminis avenae Erikss. et Henn. zeigt, daß bislang in Kanada 9 physiologische Formen (Nr. 1—9) bekannt sind, von denen die Formen 1, 2 und 5 bei weitem vorherrschen (96,5% von 1257 Isolierungen). Eine geographische Skizze läßt die Verbreitung der Formen erkennen. Die verschiedenen Infektionstypen auf dem Standardsortiment werden im Bilde vorgeführt. Verf. berichtet dann in erster Linie über den Einfluß der Temperatur auf den Infektionstyp, der einerseits durch die Uredo-, anderseits durch die Teleutosporen verursacht wird, wobei Temperaturen von 12—28° C zur Anwendung gelangten. Die Sorten Victory White Russian und Richland ließen keinerlei Änderung im Infektionstypus der Uredosporen aller 9 Formen durch die Temperatur erkennen. Für die Sorte Joanette Strain traf dies nur für die Formen 2 und 6—9 zu, während bei den Formen 1 und 3—5 eine deutliche Beeinflussung festzustellen war, indem die Sorte bei niedriger Temperatur ihnen gegenüber resistent war, bei hoher aber anfällig. Teleutosporen werden von allen Formen bei hohen Temperaturen schneller gebildet als bei niedrigen. Innerhalb der Formen besteht noch insofern ein Unterschied, als die Bildung bei 1, 2 und 5 langsamer erfolgt als bei den anderen, die virulenter sind. Das seltenere Auftreten dieser wird mit der frühen Entwicklung der Teleutosporen und der nur verhältnismäßig geringen Bildung von Uredosporen und damit von Infektionsstoff in Verbindung gebracht. Ein Einfluß des Entwicklungszustandes der Wirtspflanze auf die Teleutosporenbildung konnte nicht beobachtet werden. Dagegen wurde diese auf jungen Pflanzen durch hohe, auf reifen durch niedrige Luftfeuchtigkeit begünstigt. Ultraviolette Strahlen übten weder auf die Uredo-, noch auf die Teleutosporenbildung einen Einfluß aus. Braun (Berlin-Dahlem).

Johnson, T., Newton, M., and Brown, A. M., Further studies of the inheritance of spore colour and pathogenicity in crosses between physiologic forms of Puccinia graminis tritici Erikss. et Henn. (Scientific Agriculture. Vol. 14. 1934. p. 360—373.)

Verff. haben die Vererbung einerseits der Pathogenität, anderseits der Uredosporenfarbe von Puccinia graminis tritici zu klären gesucht. Die Uredospore enthält zwei Pigmente, ein orange im Zytoplasma und ein dunkler gefärbtes in der Sporenwand, durch deren Zusammenwirkung die rote Farbe entsteht. Das Auftreten von 3 Formen, bei denen das Pigment in der Sporenwand (9 a) oder im Zytoplasma (36, 52) fehlte, gab Veranlassung zu Bastardierungsversuchen. Nach Selbstung von F_1-Bastarden wurden in der F_2 verschiedene neue physiologische Formen erhalten, darunter aber auch die Ausgangsformen. Zwischen den einzelnen Nachkommenschaften konnten Unterschiede in der Zahl der Formen gefunden werden. Manche F_2-Formen erwiesen sich als homozygot, die Mehrzahl aber als heterozygot. Die letzteren enthielten in ihrer Nachkommenschaft weniger physiologische Formen als die F_1-Bastarde. Es ergaben sich erneut Anzeichen für plasmatische Vererbung der Pathogenität, so daß keine rein mendelistische anzunehmen zu sein scheint. Dagegen wird diese für die Vererbung der Sporenfarbe angenommen. Rote Sporenfarbe wird auf

die Anwesenheit von zwei dominanten Faktoren für Orange (Y) und Graubraun (G) zurückgeführt, weiße auf die Anwesenheit ihrer rezessiven Allelomorphe. Der Erbgang scheint dem des Rosen-Erbsen-Kamms der Hühner analog zu sein. Braun (Berlin-Dahlem).

Verona, O., Une observation sur l'action pathogène du Bact. tumefaciens Smith et Townsend. (Mem. Labor. patol. e batteriol. R. Istit. sup. Agr., Pisa. Vol. 3. No. 73. 1933. 1 p.)

Einer Anzahl von Pflanzen von Vicia Faba, die in Wasserkultur (Knopscher Lösung) gezogen waren, wurde eine virulente Kultur von B. tumefaciens zugesetzt. Bei lebhafter Entwicklung bildeten sich bald große, mehr oder weniger an den Wurzeln haftende Flocken und nach einigen Tagen entstand erst an den Seitenwurzeln, dann an der Hauptwurzel eine Braunfärbung, die sich allmählich auf den Wurzelhals und dann auf Stengel, Zweige und Blattnerven ausdehnte. Das Bakterium war also in die Pflanze eingedrungen und hatte Verstopfung der Gefäße und Nekrose der Gewebe verursacht. Da es im Boden vorkommt, erscheint die Tatsache, daß es nicht nur die bekannten Tumore, sondern auch Gefäßnekrosen hervorruft, von theoretischer und praktischer Bedeutung.

Morstatt (Berlin-Dahlem).

Sanford, G. B., On treating seed potatoes for the control of common scab. (Scientific Agriculture. Vol. 13. 1933. p. 364—373.)

Verf. hat die im allgemeinen zur Desinfektion von schorfigen Kartoffeln empfohlenen Behandlungen mit heißem und kaltem Formaldehyd, Sublimat, Bayer Nr. 649 und Schwefel einer erneuten Prüfung unterzogen und kommt zu dem Ergebnis, daß sie das Auftreten des Schorfes nicht nennenswert mildern. Ebenso hatte das Auspflanzen von unbehandelten, stark schorfigen Knollen kein verstärktes Auftreten des Schorfes zur Folge. Das ist durchaus verständlich, wenn man bedenkt, daß Actinomyces scabies innerhalb 2—3 Monaten, wie Verf. erneut nachgewiesen hat, nur 2 mm wächst. Bei Infektion des Pflanzguts mit dem Erreger waren nur wenige der Tochterknollen infiziert, und zwar nur die, welche in unmittelbarer Nachbarschaft der Mutterknolle gewachsen waren. Beim Auspflanzen in eine Erdkultur von A. scabies wurde nur der Teil der Knollen schorfig, der in dieser Kultur wuchs. Verf. lehnt deshalb die Beizung der Knollen gegen Schorf ab. Braun (Berlin-Dahlem).

Smith, K. M., The mosaic disease of sugar beet and related plants. (Journ. Min. Agric. London. Vol. 41. 1934. p. 269—274.)

Verf. beschreibt die Symptome der Mosaikkrankheit auf Zuckerrübe, Mangold und verwandten Pflanzen, von der sich eine charakteristische Chlorose durch ganz gleichförmige Fleckung ohne jede Differenzierung in den Flecken unterscheidet. Von häufigeren Unkrautarten, auf denen die Mosaikkrankheit der Rübe vorkommt, werden Chenopodium album, Amaranthus retroflexus und Sonchus arvensis genannt. Die Übertragung ist bisher experimentell durch Myzus persicae und Aphis rumicis erwiesen, über die nähere Angaben gemacht werden. Verf. ist auch, im Gegensatz zu anderen Autoren, die

Infektion durch Einreiben mit Saft kranker Pflanzen geglückt. Den Beschluß bilden Angaben über Ertragsminderung durch die Krankheit und Bekämpfungsmaßnahmen. Braun (Berlin-Dahlem).

Stanley, W. M., Chemical studies on the virus of tobacco mosaic. I. Some effects of trypsin. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 1055.)

Verf. weist nach, daß Trypsin die Infektiosität des gewöhnlichen Tabakmosaikvirus aufzuheben vermag. Dabei macht es im Prinzip keinen Unterschied, ob das Trypsin der Infektionsflüssigkeit selbst zugesetzt wird oder ob die zu infizierenden Blätter vor der Beimpfung (Einreibemethode) mit dem Trypsin benetzt werden. Das Trypsin wirkt sogar noch, wenn es erst nach der Viruseinreibung auf das Blatt gebracht wird. In diesem Fall ist es noch 30 Min. nach der Viruseinreibung wirksam. Die Versuche des Verf.s tun dar, daß nicht etwa das Virus durch das Trypsin alteriert wird, sondern die Zellen, in die das Virus eindringt. Durch die Wirkung des Trypsins auf die Zelle wird die Infektion verhindert. Die gleichen Folgen wurden auch bei Infektionsversuchen mit einer Reihe anderer Vira beobachtet. Die Zellen von Nicotiana glutinosa sind gegen die Trypsinwirkung offenbar weniger empfindlich als die anderer Arten.

E. Köhler (Berlin-Dahlem).

Takahashi, W. N., and Rawlins, T. E., Rod-shaped particles in tobacco mosaic virus demonstrated by stream double refraction. (Science. Vol. 77. 1933. p. 26.)

—, —, Application of stream double refraction in the identification of streak diseases of Tomato. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 1111.)

Es wird gezeigt, daß der in Strömung versetzte Saft von Tabakpflanzen, die mit dem gewöhnlichen Tabakmosaik infiziert sind, bei Beobachtung durch gekreuzte Nikols die Erscheinung der „Strömungsdoppelbrechung" (Freundlich, Kapillarchemie) zeigt. Saft von gesunden Pflanzen besitzt diese Eigenschaft nur in geringem Maße oder überhaupt nicht. Das Verfahren erwies sich als brauchbar zur Unterscheidung von zwei einander ähnlichen Viruskrankheiten der Tomaten. Die eine als „combination streak" bezeichnete Krankheit entsteht aus der kombinierten Infektion des oben erwähnten Tabakmosaikvirus mit dem auf Kartoffeln häufig auftretenden Ringmosaik(-X)-Virus. Am Saft von solchen Pflanzen macht sich die Tabakmosaikkomponente gleichfalls durch Doppelbrechung bemerkbar. Bei der anderen als „dieback streak" bezeichneten Krankheit ist das nicht der Fall, da an ihrem Zustandekommen das gewöhnliche Tabakmosaik nicht beteiligt ist. Die Frage, ob die Doppelbrechung auf die Teilchen des Tabakmosaikvirus selbst zurückzuführen ist, die demnach langgestreckte Form besitzen müßten, oder auf ebensolche Begleitkörperchen, ist noch ungeklärt.

E. Köhler (Berlin-Dahlem).

Tierische Schädlinge.

Jancke, O., Befall einer Himbeerpflanzung durch die Himbeergallmücke (Lasioptera rubi Heeg. Dipt. Cecid.). (Nachrichtenblatt f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 14. 1934. S. 45—47.)

Verf. berichtet über ein Auftreten von Lasioptera rubi, die in Deutschland als Schädling bisher kaum in Erscheinung getreten war,

und an Himbeeren Stengelgallen erzeugt. Die vergallten Ruten sterben im Laufe des zweiten Sommers ab oder ergeben zumindest einen geringen Ernteertrag. Der Lebenslauf der Mücke wird beschrieben.

Goffart (Kitzeberg b. Kiel).

Schaeffer, C., Onderzoek over de Karwijmot (Depressaria nervosa Hw.) en haar bestrijding. (Verslagen en Mededeel. Plantenziektenkund. Dienst, Wageningen. 1934 I. No. 74. 28 p., 4 pl.)

Nach einer Übersicht über den Anbau des Kümmels wird über früheres Auftreten der Kümmelmotte berichtet, die in Deutschland schon 1760 als schädlich gemeldet worden ist. In Groningen (Holland) hat sie 1931 und 1932 viel Schaden angerichtet. Überwinterung als Imago, Eiablage im April (größtenteils). Junge Raupen von Anfang Mai ab, Verpuppung (im Stengel) von Anfang Juni ab. Nur eine Generation. Es wurde Vernichtung der Eier mit 3 verschiedenen Ölemulsionen versucht: Volck, Parasekt und Shell (1, 2, 2%). Die Ergebnisse scheinen gut gewesen zu sein. Der Erfolg chemischer Bekämpfung der Raupen wird in Tabellenform dargestellt. Empfohlen wird der Praxis vorläufig: 1. Durch Fanggläser den Flug der Motte zu überwachen. 2. Mit der Bekämpfung 4 Wochen nach dem Hauptflug anzufangen und sie innerhalb 14 Tagen zu beendigen. 3. Die Behandlung nach 7—10 Tagen zu wiederholen. 4. Als die besten Mittel sind vorläufig Natrium- und Bariumfluorsilikat zu bezeichnen, verspritzt oder verstäubt. 4. Es muß viel davon auf die Pflanzen und zwar „in das Gewächs" gebracht werden. K. Friederichs.

Schwencke, E. H., Ein neuer Sisalschaden in Ostafrika. (Der Tropenpflanzer. Jahrg. 37 s. 1934 s. S. 322—326.)

Ein 1931 zuerst beobachteter Schaden an Sisalagaven in Ostafrika erwies sich als durch den Rüsselkäfer Scyphophorus acupunctatus verursacht, obgleich er nicht mit demjenigen Schadensbild übereinstimmt, das Morstatt 1921 nach der ersten Feststellung von 1914 beschrieben hat. Danach drang der Käfer von unten her in das Herz der Agave ein und legte Eier ab. Die Larven fraßen sich dann bis zur Spitze des Herzens durch. Jetzt werden die äußeren Herzblätter der Agave an der Außenseite der Ränder von vielen nadelstichartigen Löchern durchbohrt, und diese Stellen vertrocknen. Die Fasern verfärben sich und werden von der Maschine ausgebürstet. Seine Eier legt der Käfer jetzt nur in totem Gewebe, etwa abgeschlagenen Strünken, ab, und man kann ihn durch Auslegen von Spaltstücken solcher mit Erfolg ködern. Im übrigen wird das Prämiensystem angewendet. Verbrennen der alten Strünke, ehe sie ganz trocken sind, gelingt nicht völlig; die Käferlarven bleiben in ihrem Inneren am Leben; nach dem völligen Vertrocknen aber haben sie die Pflanze verlassen. Diese Käfer treten auf den Pflanzungen in bedrohlicher Menge auf.

K. Friederichs.

de Gryse, J. J., and Schede, K., An account of the eastern hemlock looper, Ellopia fiscellaria Gr., on hemlock, with notes on allied species. (Scientific Agriculture. Vol. 14. 1934. p. 523—539.)

Verff. haben 1928 und 1929 ein Massenauftreten von Ellopia fiscellaria Gn. in der Gegend der Muskoka-Seen in der Provinz Ontario (Kanada) beobachten können. Sie geben eine ausführliche Zusammen-

stellung der bisher bekannt gewordenen Mitteilungen über das Auftreten dieses Schädlings und verwandter Arten. Kurze Angaben über systematische Stellung und die Hauptmerkmale der Spezies folgen. Bemerkungen über die Biologie, Topographie und die Waldtypen geben ein Bild von dem Seuchenherd, dessen Ausdehnung und Stärke kurz gekennzeichnet wird. Die Biologie des Schädlings und die Möglichkeiten der Bekämpfung werden besprochen. Am stärksten wurde Tsuga canadensis befallen. Andere Pflanzen wurden nur angegriffen, wenn sie in Beständen der Hemlockstanne standen. Nur Taxus canadensis Marshall blieb verschont. Der Parasitismus des Schädlings war ziemlich verbreitet: von 800 Proben waren 20,12% parasitiert. Für die Bekämpfung kommt in erster Linie Bestäuben mit Arsen in Frage. Außerdem ist der Anbau von Mischbeständen zu empfehlen. Braun (Berlin-Dahlem).

Balch, R. E., The balsam wooly aphid, Adelges piceae (Ratz.) in Canada. (Scientific Agriculture. Vol. 14. 1934. p. 374—383.)

Es wird ein kurzer Überblick über die Biologie von Adelges piceae (Ratz.), der Erregerin der Gichtkrankheit von Abies balsamea (L.) Müller gegeben, nachdem einige Angaben über ihre Geschichte in Europa und Nordamerika gemacht worden sind. Die Hauptverbreitung erfolgt durch Verwehen der eben aus dem Ei geschlüpften Junglarven. Die Schadenwirkung am einzelnen Baum sowie im ganzen Waldbestand wird erörtert. Für natürliche und künstliche Bekämpfung werden Ratschläge erteilt. Braun (Berlin-Dahlem).

Watson, E. B., An account of the eastern hemlock looper, Ellopia fiscellaria Gn., on balsam fir. (Scientific Agriculture. Vol. 14. 1934. p. 669—678.)

Verf. gibt zunächst einen Überblick über das Auftreten von Ellopia fiscellaria Gn. in Quebec und Nova Scotia. Noch vor 1928 ist dieser Schädling auf Papierholz in Kanada unbekannt gewesen. In diesem Jahre wurde erstmalig schwerer Befall von Abies balsamea festgestellt. Das Schadbild bei starkem Auftreten wird geschildert. Es erinnert an die durch Harmologa fumiferana hervorgerufenen Schädigungen. Die Biologie des Insekts wird eingehend beschrieben. Bevorzugte Futterpflanze ist Abies balsamea, während die Hemlokstanne in den verseuchten Gebieten nicht vorkommt. Auch Weiß- und Schwarztanne werden befallen. Im allgemeinen waren die Schäden in Reinbeständen von Abies balsamea am stärksten; aber auch in Mischbeständen mit 45% Tanne waren sie teilweise schwer. Über den Ursprung der Epidemie läßt sich nichts sagen. Eingehen der Bäume im Winter ist nur bei völligem Verlust der Nadeln zu befürchten. Über den Verlust des Dickenzuwachs werden Zahlenangaben gebracht. Sekundäres Auftreten anderer Insekten wurde nur selten beobachtet. In einem Schlußabschnitt werden Bekämpfungsmaßnahmen angegeben. Braun (Berlin-Dahlem).

Zattler, F., Die rote Spinnmilbe als Hopfenschädling und Erfahrungen bei ihrer Bekämpfung. (Allgem. Brauer- u. Hopfenztg. Bd. 74. 1934. S. 486—489.)

Die rote Spinnmilbe, Tetranychus (Untergattung Epitetranychus Zach.) althaeae v. Hanst., befällt außer Hopfen, an dem sie den

sog. Kupferbrand hervorruft, noch eine große Anzahl anderer Kulturpflanzen. Der Schädling befällt nur Pflanzen, die durch andere Einflüsse bereits geschwächt sind. Abnorme Trockenheit, einseitige Düngung mit Stallmist, Jauche oder Fäkalmist, stauende Nässe, Schwächung der Hopfenstöcke durch Abschneiden der Reben bei der Ernte, Vernachlässigung der Bodenpflege, begünstigen den Befall. Die Spinnmilbe bildet auf der Blattunterseite, bei starkem Auftreten auch an den Dolden, ein feines Gespinst, das sie gegen die Witterung schützt und unter dessen Schutz das Weibchen ihre Eier ablegt. Die Zahl der Generationen hängt vom Klima ab, sie schwankt zwischen 5 und 9. Die Überwinterung erfolgt in den Ritzen der Hopfenstangen und anderen geschützten Schlupfwinkeln, im Frühjahr beginnt dann der Befall der Stöcke von der Bodennähe aus. Zur Bekämpfung sind die befallenen Blätter sorgfältig zu entfernen. Die Vernichtung des Gespinstes mit Insassen und Eiern gelingt durch Bespritzen mit Schwefelkalkbrühe und zwar bis längstens zum Beginn der Doldenbildung. Schwefelkalkbrühe reagiert nämlich mit Kupferkalkbrühe, auf deren Anwendung man auch während der Ausdoldung der Peronospora wegen nicht verzichten kann, und gibt unansehnliche Flecken, die den Handelswert des Hopfens stark heruntersetzen. An anderen Bekämpfungsmitteln kommen in Betracht: Schmierseifen-Tabakextraktbrühe, Erysit und Chrysantol. Heuß (Berlin).

Oekologie, biologische und chemische Bekämpfung tierischer Schädlinge.

Langenbuch, R., Über die Verbreitung von Erbsenwicklerarten in Deutschland. (Nachrichtenblatt f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 14. 1934. S. 23.)

Verf. konnte auf Grund zahlreicher Einsendungen feststellen, daß als Erbsenwickler in Deutschland fast ausschließlich Laspeyresia nigricana Steph. in Betracht kommt, während L. dorsana F., vielleicht von einigen örtlichen Ausnahmen abgesehen, in bedeutend geringerer Zahl auftritt. L. nebritana Tr. scheint dagegen weder in Nord- noch Mitteldeutschland und wahrscheinlich auch nicht in Süddeutschland vorzukommen.

Goffart (Kitzeberg b. Kiel).

Winning, E. v., Der Stand der Ausbreitung der Bisamratte in Deutschland. (Nachrichtenblatt f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 14. 1934. S. 24—26.)

Der Aufsatz gibt einen Überblick über den Stand der Bisamrattenbekämpfung in den Provinzen Brandenburg, Hannover, Grenzmark, Niederschlesien, Oberschlesien und Sachsen, ferner in Bayern, Württemberg, Baden, Sachsen, Thüringen, Anhalt und Hamburg. In Schlesien sowie in Bayern und Württemberg sind die Grenzen des Befallsgebietes erheblich nach Norden vorgeschoben worden. Weiterhin hat sich die Bisamratte an zwei Stellen der Unterelbe gezeigt. Ebenso wurden in der Provinz Brandenburg und in Anhalt ein stärkeres Vordringen des Schädlings beobachtet.

Goffart (Kitzeberg b. Kiel).

Feucht, W., Vorzüge und Nachteile einiger vom Deutschen Pflanzenschutzdienst geprüfter Feldmäusebekämpfungsmittel. (Nachrichtenblatt f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 14. 1934. S. 33—35.)

Geprüft wurden Räuchermittel, Giftgetreide, Phosphor- und Bakterienpräparate. Unter den Räuchermitteln hat sich das „Hora-Räucherverfahren“ als das zuverlässigste und gleichzeitig preiswerteste Verfahren bewährt. Das „Delicia“-Verfahren steht hinsichtlich der Wirksamkeit etwas zurück. Die

Versuche mit „Lepit" befriedigten wegen zu geringer Wirksamkeit nicht ausreichend. Vom Giftgetreide haben sich die „Zelio"-Körner am besten bewährt. Leider steht der allgemeinen Anwendung des Mittels der hohe Preis (5 RM. je kg) gegenüber. Gleich gute Erfolge wurden mit „Delicia"-Mäuselatwerge und „Rumetan" erzielt. Mit „Delicia"-Mäuselatwerge wird sich wahrscheinlich etwas billiger arbeiten lassen als mit dem im Verbrauch allerdings etwas billigeren „Rumetan". Bakterienpräparate haben bei leidlich gutem Wetter einen guten Erfolg gezeitigt. Abgesehen von der Vor- und Zubereitung des Mittels sind Bakterien das billigste Mäusevertilgungsmittel. Goffart (Kitzeberg b. Kiel).

Trappmann, W. und Nitsche, G., Versuche mit Giftgetreide gegen Mäuse. (Nachrichtenblatt f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 14. 1934. S. 35—36.)

Zur Bewertung der einzelnen Giftgetreidepräparate führten Verff. Fütterungsversuche durch. Es zeigte sich dabei, daß Strychningetreide nur wenig, Phosphorpräparate mäßig stark aufgenommen wurden, während der Fraß an Thallium-Körnern an den Fraß von unbehandeltem Getreide herankam. Am wirksamsten waren Strychninkörner, dann Phosphorpräparate und schließlich Thallium-Körner, bei denen noch ein bedeutender Nachfraß von unvergiftetem Getreide zu verzeichnen war. Bevorzugt wurden aber nächst dem unbehandelten Getreide Thallium-Körner, dann folgen Phosphorpräparate und Strychningetreide. Es empfiehlt sich also, Strychningetreide in erster Linie dort zu verwenden, wo die natürliche Nahrung der Mäuse knapp ist. Thallium-Körner dürfen bei starkem Mäuseauftreten nicht zu sparsam ausgelegt werden. Zwischen beiden stehen die Phosphorpräparate, die bei guter Giftwirkung auch in ausreichendem Maße von den Mäusen angenommen wurden. Goffart (Kitzeberg b. Kiel).

Hartzell, A., Histopathology of insect nerve lesions caused by insecticides. (Contrib. Boyce Thompson Inst. Vol. 6. 1934. p. 211—223.)

Um histologische Veränderungen im Nervengewebe von Insekten, die durch äußerliche Anwendung von Pyrethrum getötet waren, festzustellen, wurden die Organe mit Toluidin-Blau gefärbt nach einer in der Medizin zur Diagnostizierung von Paralyse üblichen Technik. Die Versuchstiere waren Mehlwürmer und Heuschrecken (Melanoplus femur-rubrum). Es wurden Schädigungen im Centralnervensystem, im Gehirn, im Unterschlundganglion, den Rücken- und Bauchganglien festgestellt. Bei Insekten, die durch Pyrethrin getötet sind, glaubt Verf. aus dem histopathologischen Bild schließen zu müssen, daß der Tod durch Zerstörung der Zellen des Centralnervensystems und daraus entstehende Paralyse eingetreten war. Bei Mehlwürmern, die mit Triorthocresylphosphat behandelt wurden, trat Schädigung der Bauchganglien ein. Bei Anwendung von Rotenon wurden keine den vorgenannten vergleichbare Veränderungen des Nervengewebes gefunden.

Während frühere Untersucher die tödliche Wirkung von Radiumbestrahlung der entstehenden Hitze zuschrieben, fand Verf. ungleiche Wirkungen von Radium und Hitze. Anschließend wurde die pharmakologische Wirkung der Einspritzung von Pyrethrin auf Muskeln des Frosches untersucht. K. Friederichs.

Abgeschlossen am 21. Februar 1935.

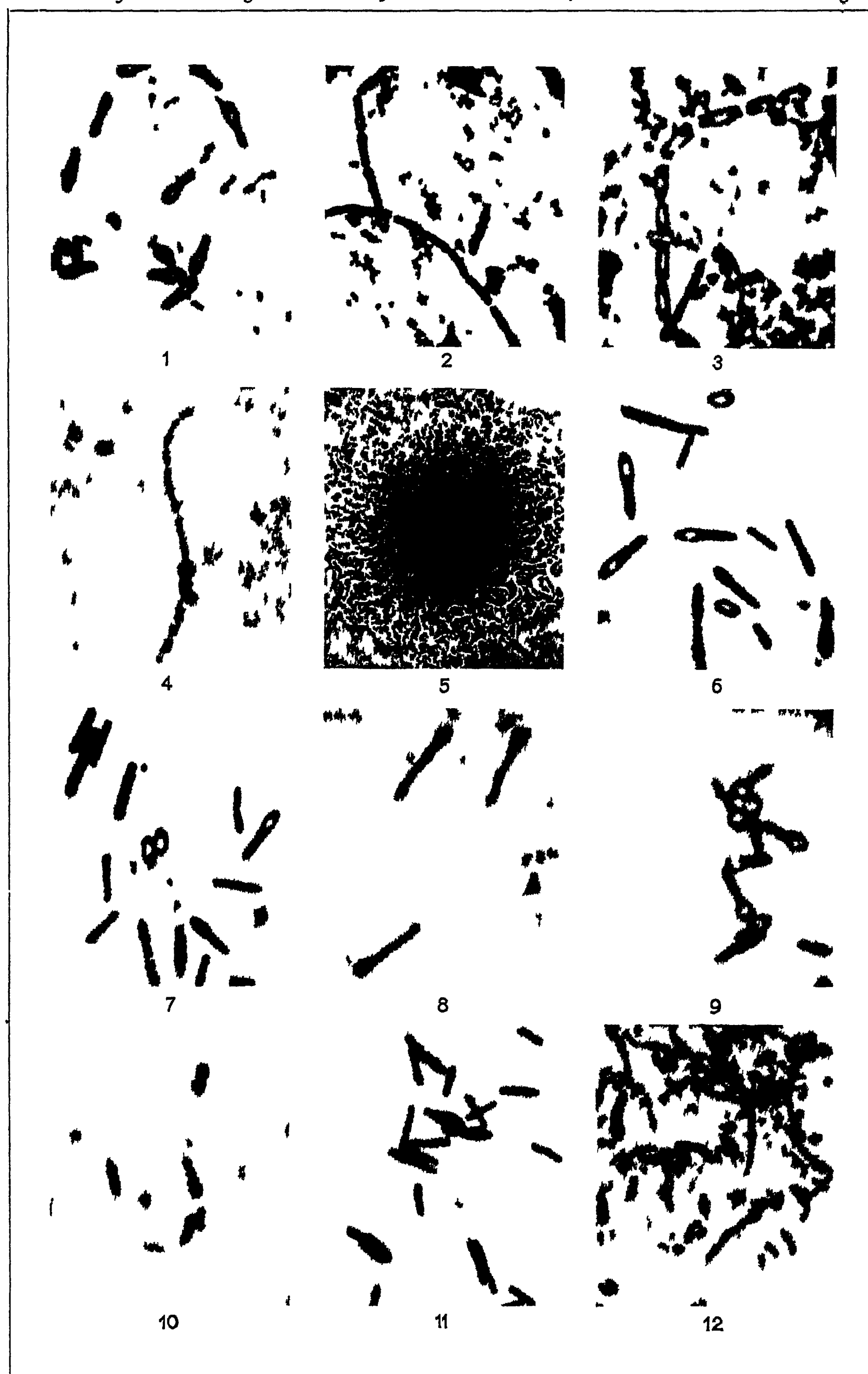
Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band 91 enthaltenen Arbeiten.

II. Namen- und Sachverzeichnis.

(Stichworte, die auf Originalarbeiten hinweisen, sind durch ein * gekennzeichnet.)

Furstl priv. Hofbuchdruckerei (F Mitzlaff) Rudolstadt



Verlag von Gustav Fischer in Jena



1



2



4



3



5



6

Verlag von Gustav Fischer in Jena



7



8



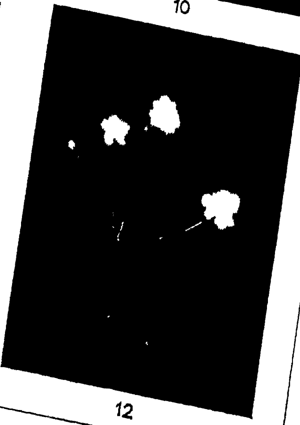
9



10



11



12

Verlag von Gustav Fischer in Jena

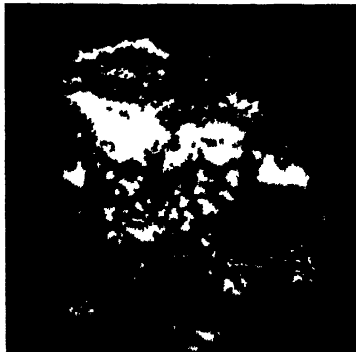
13



14



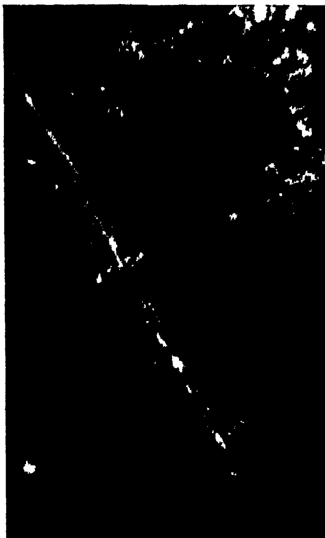
15



18



19



16



20



17



Verlag von Gustav Fischer in Jena